

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
INISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت - 1955 سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie
Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Filière : Sciences biologiques
Option : Microbiologie appliquée

Intitulé :

**L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits des
graines de *Myrtus communis* L. (الريحان)**

Présenté Par :

- Kateb Basma
- Cherouat Hadjer
- Babouche Djoumana

Membre de jury :

-Dr. Boucetta Sabrine	(MCA)	Présidente	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda
-Dr. Aggoun Asma	(MCB)	Directrice de mémoire	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda
-Dr. Djerrab Leila	(MCB)	Examinatrice	Univ. Du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2024/2025

Remerciement

Louange à Dieu, par Sa grâce les bonnes choses s'accomplissent. C'est par Sa volonté et Son aide que ce travail a pu être mené à bien. À Lui reviennent les louanges en premier et en dernier, au visible comme au caché.

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadrante, Madame **AGGOUN ASMA** pour sa supervision bienveillante, ses orientations précieuses et ses remarques constructives, qui ont grandement contribué à l'aboutissement de ce mémoire, nous remercions vivement les membres du jury, Dr **BOUCETTA SABRINE** et Dr **Djerrab Leïla**, pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'évaluer ce travail, ainsi que pour l'intérêt qu'ils lui ont accordé.*

Nous n'oublions pas de remercier l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation académique tout au long de notre parcours universitaire, pour la qualité de leur enseignement et leurs conseils avisés.

*Nous tenons à exprimer notre remerciement les plus sincères à l'atelier **Green hill** Chacun son nom pour nous avoir offert l'opportunité de réaliser une partie de ce travail dans un cadre aussi stimulant que professionnel. Leur accueil, leur disponibilité et les moyennes techniques mis à nous disposition ont largement facilité le bon déroulement de cette étude.*

*Nous adressons également toute notre gratitude à monsieur **Zaïd Nacer**, pour son accompagnement bienveillant, ses conseils avisés et sa grande générosité tout au long de cette collaboration. Son expertise et sa rigueur ont été d'un soutien précieux à chaque étape de ce projet.*

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réussite de ce travail, nous disons un grand merci.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères à nos chers amis pour leur soutien constant, ainsi qu'à toutes les personnes qui nous ont encouragés, de près ou de loin, tout au long de cette aventure.

Dédicace

Je dédie ce travail, fruit de plusieurs années d'efforts, à des personnes chères à mon cœur :

*A mon père **Salah**, pour sa sagesse, son soutien inébranlable et sa foi en moi.*

*A ma mère **Ghanía**, pour son amour infini, ses prières et sa présence réconfortante.*

*A mes frères **Loqman** et **Abd'ellatif**, pour leur encouragement constant et leur affection fraternelle.*

*A mon fiancé **Akram**, pour sa patience, son amour et sa motivation sans faille.*

*A ma précieuse amie **Hadjer**, pour son amitié sincère et ses mots rassurants dans les moments difficiles.*

*Et **Djoumana**, pour sa bienveillance et son soutien discret mais précieux.*

A vous tous, merci d'avoir cru en moi.

Basma

Dédicace

*A ma mère **Naïma**, Toi qui as toujours été la prière sincère et la main qui ne m'a jamais lâchée, Chaque mot que j'ai écrit, chaque pas que j'ai fait, était guidé par ton amour et ta patience. Cette réussite est le fruit de ton cœur et de ton dévouement sans limite.*

*À l'âme pure de mon père **Mouhamede**, Tu es parti loin de mes yeux, mais tu demeures à jamais lumière et prière dans mon cœur. Tu m'as appris la patience, inculqué la force ... Tu resteras à jamais ma fierté.*

*À mes sœurs **Rokaya et Ismahane et Ritadj et Sara** et mon frère **Sofiane**, Vous qui ne m'avez jamais privé de votre amour et de votre soutien, Vous avez été mon refuge dans la faiblesse, et ma force dans l'épreuve. Grâce à vous, j'ai pu atteindre ce moment.*

*À mes beaux - frères **Q.siaf adine et B.abd arahmane**, Vous étiez non seulement dignes d'être mariés , mais aussi frères en actes et en attitude . Merci pour votre honnêteté, votre soutien et pour m'avoir soutenu sans rien attendre en retour.*

*À ma professeure encadrante **A. asma**, Merci pour votre main tendue, votre patience, et votre confiance. Vous avez été bien plus qu'une encadrante ... un modèle, une inspiration. Recevez toute ma reconnaissance et ma gratitude.*

*À mes chères camarades **k. basma et B. joumana**, Compagnes de route et femmes de volonté, Vous avez été la lumière dans les jours difficiles et le soutien dans les moments de doute. Grâce à vous, le chemin a été plus doux, et nos souvenirs resteront gravés dans mon cœur pour toujours.*

À tous ceux que j'aime, et à qui je dois tant ... Je vous dédie cette réussite, ce moment, ce diplôme. Il est le fruit de votre amour, et le témoignage de ma fidélité envers vous.

Hadjer

Dédicace

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi "mon père".

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie mon bonheur ; **maman** que j'adore*

*A mon fiancé **Abd El Aziz**, pour sa patience, sa confiance et sa présence précieuse à mes côtés.*

*. A mes frères **Yasser, Ghada, Maya Ritadj** merci pour votre soutien vos encouragements inconditionnels.*

*À mes collègues **Basma et Hadjer** et toute mes amies.*

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Djoumana

Résumé

Dans le but de valoriser les plantes médicinales et aromatiques algériennes, nous sommes intéressés dans ce mémoire à l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et les extraits des graines de *Myrtus communis L.*

Le pouvoir antibactérien a été évalué sur six souches 2 souches clinique : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et 4 souches de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, et une souche fongique *Candida albicans* ATCC 91234, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition ainsi que par la méthode de macro dilution en milieu liquide en déterminant les CMI et les CMB.

Le rendement obtenu d'huile essentielle est 0.11%. L'huile essentielle de myrte a démontré une activité inhibitrice contre des bactéries Gram positives *staphylococcus aureus* et Gram négatives *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*, ainsi que la levure *Candida albicans*.

Pour les extraits méthanolique et éthanolique des graines les résultats obtenues démontrent que sont plus active contre les bactéries Gram positif celles aux bactéries Gram négatif.

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* obtenues dans cette étude varient de 10 mg/l. Pour *Escherichia coli*, la CMI est de 5 mg/l.

D'après les résultats, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Candida* ATCC 91234 partagent des valeurs identiques de CMI.

Concernant les concentrations minimales bactéricides/fongicides (CMB), l'huile essentielle inhibe complètement la croissance de *Pseudomonas* ATCC 27853 et *Candida* ATCC 91234 à 40 mg/l, ce qui indique un effet bactéricide et fongicide contre ces souches

Mots clés : CMB, CMI, Huile essentielle, L'activité antimicrobienne, les extraits des Graines, *Myrtus communis L.*

بهدف تّمين النباتات الطبية والعطرية الجزائرية، اهتمنا في هذا البحث بدراسة النشاط المضاد للميكروبات للزيت العطري ومستخلصات بذور *Myrtus communis L*.

تم تقييم القدرة المضادة للبكتيريا على ست سلالات (سلالتان سريريتان: *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*، وأربع سلالات مرجعية: *Staphylococcus aureus ATCC*، *E. coli ATCC*، *Pseudomonas aeruginosa ATCC*، وسلالة فطرية واحدة *Candida albicans ATCC*) وذلك بقياس أقطار التثبيط وكذلك باستخدام طريقة التخفيف في الوسط السائل لتحديد التركيز المثبط الأدنى (CMI) والتركيز القاتل الأدنى (CMB).

أظهر الزيت العطري للأس نشاطاً مثبطاً ضد البكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*) وسالبة الغرام (*Pseudomonas aeruginosa* و *E. coli*) وكذلك الفطريات (*Candida albicans*).

أما المستخلصان الميثانولي والإيثانولي للبذور، فقد بينت النتائج أنهما أكثر نشاطاً ضد البكتيريا موجبة الغرام مقارنة بالبكتيريا سالبة الغرام. تتراوح قيم التركيزات المثبطة الدنيا للزيت العطري للأس التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة بين 10 ملغ/لتر. بالنسبة لـ *Escherichia coli*، بلغ CMI 5 ملغ/لتر.

Pseudomonas ATCC27853 و *Candida ATCC 91234* في قيم CMI متماثلة تتشارك، وفقاً للنتائج

أما بخصوص التركيزات القاتلة الدنيا (CMB)، فقد تمكن الزيت العطري من إيقاف نمو *Pseudomonas ATCC* و *Candida ATCC 91234* كلياً عند تركيز 40 ملغ/لتر، مما يشير إلى تأثير قاتل للبكتيريا والفطريات ضد هذه السلالات.

الكلمات المفتاحية:، النشاط المضاد للميكروبات، الزيت العطري، مستخلصات البذور CMI، CMB، *Myrtus communis L*

Abstract

With the aim of promoting Algerian medicinal and aromatic plants, this dissertation focuses on studying the antimicrobial activity of the essential oil and seed extracts of *Myrtus communis L.*

The antibacterial potential was evaluated on six strains (two clinical strains: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, and four reference strains: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and one fungal strain *Candida albicans* ATCC 91234) by measuring the diameters of inhibition zones and using the liquid macro-dilution method to determine the Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Bactericidal/Fungicidal Concentrations (MBC/MFC).

The essential oil of myrtle demonstrated inhibitory activity against Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*, Gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, as well as fungi (*Candida albicans*).

For the methanolic and ethanolic seed extracts, the results showed they were more active against Gram-positive bacteria than Gram-negative bacteria.

The MIC values of *Myrtus communis L.* essential oil obtained in this study ranged from 10 mg/l. For *Escherichia coli*, the MIC was 5 mg/l.

According to the results, *Pseudomonas* ATCC 27853 and *Candida* ATCC 91234 shared identical MIC values.

Regarding the Minimum Bactericidal/Fungicidal Concentrations (MBC/MFC), the essential oil completely inhibited the growth of *Pseudomonas* ATCC 27853 and *Candida* ATCC 91234 at 40 mg/l, indicating bactericidal and fungicidal effects against these strains.

Keywords: antimicrobial activity, essential oil, MBC, MIC, *Myrtus communis L.*, seed extracts.

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des Abréviations

Introduction **01**

Partie Bibliographique

Chapitre 01 : Etude botanique et l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*

1-Etude botanique de <i>Myrtus communis L.</i>	04
1-1'importance des plantes médicinales	04
2-Description et étude botanique de <i>Myrtus communis L</i>	04
2.1-Discription	04
2.2-Etude botanique	05
3-Dénomination internationale de la plante	06
4-Position systématique de la plante	06
5-Domaine d'utilisation de la plante	07
5.1. Traditionnel	07
5.2. Récente	07
. En médecine	07
. En industrie agroalimentaire	08
. En Cosmétologie et parfumerie	08

6-Répartition géographique	08
2-L'huile essentielle et extraction de <i>Myrtus communis L</i>	09
1-Définition de l'huile essentielle	09
2- Caractéristiques des huiles essentielles	10
3-Composition chimique d'huile essentiel	10
3.1. Terpénoïdes	10
3.2. Monoterpènes	10
3.3. Sesquiterpènes	11
3.4. Composés aromatiques	11
3.5. Polyphénol	11
4-Techniques d'extraction d'huile essentielle	11
4.1. Hydrodistillation	11
4.2. L'expression à froid	12
4.3. Distillation à la vapeur	12
4.4. Hydro-diffusion à la percolation	12
4.5. Extraction par solvants	13
4.6. Extraction par micro-ondes	13
4.7. Autres méthodes	14
5-La toxicité des huiles essentielles	14
6-La conservation des huiles essentielles	14

Chapitre 02 : Les souches microbiennes testées et activité antimicrobienne d'huile essentielle et les graines.

1-Les souches microbiennes testées	16
1-Les souches bactériennes	16
1.1.Les souches cliniques	16

<i>*Escherichia coli</i>	16
1.1.1. Taxonomie	16
1.1.2. Habitat	16
a. Habitat primaire	16
b. Habitat secondaire	16
1.1.3. Pouvoir pathogène	17
<i>*Staphylococcus Aureus</i>	17
1.1.1. Taxonomie	17
1.1.2. Habitat	17
1.1.3. Pouvoir pathogène	18
1.2. Souche de référence	18
<i>*Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.</i>	18
1.2.1. Taxonomie	18
1.2.2. Habitat	19
1.2.3. Pouvoir pathogène	19
2-Souche fongique	19
<i>*Candida albicans ATCC 91234</i>	19
2.1 Taxonomie	19
2.2. Habitat	19
2.3. Pouvoir pathogène	20
2- Activité antimicrobienne	20
2-1 Activité antibactérienne	20
2-2 Activité antifongique	21

Partie Expérimentale

Chapitre 01 : Matériel et Méthodes.

1. Matériel	
1.1. Matériel non biologique	23
1.2. Matériel biologique	23
*Matériel végétal	24
a. Critères de choix de la plante	24
b. Récolte	24
c. Séchage	24
*Microorganismes testées	25
a. Conservation des souches	28
2. Méthodes	
2.1. Extraction d'huile essentielle	28
a. Protocole d'extraction d'huile essentielle	28
b. Conservation	30
c. Détermination du rendement de l'huile essentielle	30
2.2. Préparation de l'extrait éthanolique et méthanolique des graines de <i>Myrtus communis L.</i>	30
a. Protocole d'extraction éthanolique et méthanolique	30
b. Conservation de l'extrait	31
c. Détermination du rendement de l'extrait	31
2.3. L'enrichissement, la revivification et l'identification des souches	31
a. Enrichissement et revivification des souches	31
*Enrichissement des souches	32
*Revivification des souches	32
b. Identification des souches	33
*Observation macroscopique	33
*Observation microscopique	33
*1*Coloration de Gram	33

-Fixation du frottis	34
-Procédure de coloration	34
*2*Coloration au bleu de méthylène pour <i>Candida albicans</i>	34
-Principe	34
-Mode opératoire	34
2.4. L'activité antimicrobienne d'huile essentielle et l'extrait éthanolique et méthanolique par la méthode de l'aromatogramme et la méthode des puits.	35
1. L'aromatogramme par l'huile essentielle.	35
-Principe	35
*préparation de dilution	35
*Préparation de Mc Farland standards	36
*Procédé d'aromatogramme	37
1 Pour les bactéries	37
2 Pour la levure	37
2. Méthode des puits	38
a. Par l'extrait éthanolique et méthanolique	38
*Préparation de dilution	38
*Préparation de Mc Farland standards	39
*Méthodes	39
1 Pour les bactéries	39
2 Pour la levure	39
2.5. Détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI)	40
a. CMI de l'huile essentielle	40
*Préparation de la solution mère	40
*Préparation des dilutions	40
*Préparation de Mc Farland standards	40

b. CMI de l'extrait éthanolique	41
*Préparation de la solution mère	41
*Préparation des dilutions	41
*Préparation de Mc Farland standards	41
2.6. Détermination de concentration minimale bactéricide (CMB) et fongique (CMF)	42
a. Mode opératoire	42
*Ensemencement	42

Chapitre 02 : Résultats et discussion.

1.Extraction de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L</i>	44
2.Rendement	44
3.Extrait éthanolique des graines	45
4. Rendement	46
5.Extrait méthanolique des graines	46
6.Rendement	46
7.Observation macroscopique et microscopique	47
8.Résultats d'aromatogramme et la méthodes des puits pour les extraits éthanolique et méthanolique	49
a. Détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L</i> . vis-à-vis des microorganismes testés	50
b. Détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'extrait éthanolique des graines de <i>Myrtus communis L</i> . vis-à-vis ses microorganismes testés	52
c. Détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique des graines de <i>Myrtus communis L</i> . vis-à-vis ses microorganismes testés	54
9.Détermination de CMI	57
a. Pour l'huile essentielle	57
b. Pour l'extrait éthanolique	57
10.détermination de CMB et CMF	58

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Matériel non biologique.	Page 23
Tableau 02	Les paramètres géographiques des régions de récolte.	Page 24
Tableau 03	Tableau de l'antibiogramme avec le nom des antibiotiques.	Page 26
Tableau 04	Origine des souches microbiennes testées.	Page 28
Tableau 05	Les dilutions de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L.</i>	Page 35
Tableau 06	Les dilutions de l'extraits éthanolique (méthanolique) des graines du <i>M. communis L</i>	Page 39
Tableau 07	Les caractéristiques des huiles essentielles <i>M. communis L.</i>	Page 44
Tableau 08	Rendement des huiles essentielles de <i>M. communis L.</i>	Page 44
Tableau 09	Les caractéristiques de l'extraits Ethanoliques <i>M. communis L.</i>	Page 45
Tableau 10	Rendement de l'extraits Ethanoliques de <i>M. communis L.</i>	Page 46
Tableau 11	Les caractéristiques de l'extraits Méthanoliques <i>M. communis L.</i>	Page 46
Tableau 12	Rendement de l'extraits Méthanoliques de <i>M. communis L.</i>	Page 46
Tableau 13	Résultats des observations macroscopique et microscopique des souches microbiennes.	Page 47
Tableau 14	Les diamètres des zones d'inhibitions de l'HE de <i>Myrtus communis.</i>	Page 50
Tableau 15	Les diamètres des zones d'inhibition de l'extrait Ethanolique des graines de <i>M. communis L.</i>	Page 52
Tableau 16	Les diamètres des zones d'inhibition de l'extrait Méthanolique des graines de <i>M. communis L.</i>	Page 54
Tableau 17	Les résultats des CMI de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L.</i>	Page 57
Tableau 18	Les résultats des CMI de l'éthanol de <i>Myrtus communis L.</i>	Page 57
Tableau 19	Les résultats des CMB et CMF d'huile essentielle	Page 59

Tableau 20	Les résultats des CMB d'extrait éthanolique	Page 59
------------	---	---------

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	<i>Myrtus communis</i> : a. Fleurs, b. Feuilles, c.Fruits, d. Graines	Page 05
Figure 02	Discription du genre myrte dans le monde et en Algérie.	Page 09
Figure 03	Schéma du principe de la technique d'Hydrodistillation.	Page 11
Figure 04	Montage d'extraction des HEs par entrainement à la vapeur d'eau.	Page 12
Figure 05	Schéma du dispositif de l'hydrodiffusion.	Page 13
Figure 06	Technique d'extraction par solvant.	Page 13
Figure 07	Montage d'extraction assistée par micro-onde.	Page 14
Figure 08	Les feuilles du <i>Myrtus</i> a, b.	Page 25
Figure 09	Les graines du <i>Myrtus</i> .	Page 25
Figure 10	Les souches de référence (ATCC).	Page 25
Figure 11	L'appareil d'extraction (Distillateur inox 50 litr INOX 304).	Page 29
Figure 12	Préparation de l'extrait d'huile essentielle.	Page 30
Figure 13	Protocole de l'extrait éthanolique et méthanolique de <i>Myrtus communis L.</i>	Page 31
Figure 14	Protocole de l'enrichissement des souches microbiennes.	Page 32
Figure 15	Protocole de revivification des souches microbiennes.	Page 33
Figure 16	Les dilutions de l'huile essentielle.	Page 36
Figure 17	Préparation de McFarland standard des cinq souches microbiennes.	Page 37
Figure 18	Procédé d'aromatogramme de l'huile essentielle.	Page 38
Figure 19	Détermination de concentration minimale bactéricide (CMB) et fongique (CMF).	Page 42

Figure 20	Les caractéristiques d'huile essentielle <i>Myrtus communis L.</i>	Page 44
Figure 21	Les caractéristiques d'extrait éthanolique des graines de <i>Myrtus communis L.</i>	Page 45
Figure 22	Les caractéristiques d'extrait méthanolique des graines de <i>Myrtus communis L.</i>	Page 46
Figure 23	Les résultats d'aromatogramme par l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L.</i>	Page 51
Figure 24	Les résultats de méthode des puits par l'extrait éthanolique des graines de <i>Myrtus communis L.</i>	Page 53
Figure 25	Les résultats de méthode des puits par l'extrait méthanolique des graines de <i>Myrtus communis L.</i>	Page 55
Figure 26	Les résultats des CMI de l'éthanol et de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L.</i> pour trois souche (a, b, c)	Page 58
Figure 27	Les résultats de la CMB des extraits Ethanoliques et L'huile essentielle de <i>M. communis L.</i>	Page 60

Liste des abréviations

ATCC	American Type Culture Collection
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMF	Concentration Minimale Fongique
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ES	Extrêmement sensible
HE	Huile essentielle
<i>P.aeruginos</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
R	Résistante
S	Sensible
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SI	Sensibilité intermédiaire
TS	Très sensible

**I
N
T
R
D
U
C
T
I
O
N**



Introduction

La flore algérienne, riche en plantes médicinales appartenant à diverses familles botaniques, dont environ 15 % sont endémiques, demeure encore largement inexplorée tant sur le plan phytochimique. La valorisation de ces ressources végétales nationales pourrait représenter un atout majeur pour l'industrie pharmaceutique algérienne, avec des retombées économiques significatives (**Boulezazen, 2017**).

Les huiles essentielles, extraites de diverses parties des plantes, ont longtemps été utilisées pour leurs propriétés médicinales. Des études scientifiques ont démontré que les huiles essentielles possèdent des activités antimicrobiennes contre un large éventail de bactéries, y compris *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et ainsi que contre les souches de référence (*E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853 et un souche fongique *Candida albicans* ATCC 91234) (**Bakkali, 2008**).

Myrtus communis L., communément appelé myrte, est une plante médicinale reconnue depuis l'antiquité pour ses multiples applications thérapeutiques. Ces dernières années, ses propriétés antimicrobiennes ont suscité un intérêt croissant dans la recherche phytochimique, notamment concernant ses graines et son huile essentielle

Notre choix est porté sur cette plante aromatique, car elle est très répandue en Algérie et largement utilisée en médecine traditionnelle

Dans le but de contribuer à la valorisation de cette plante, nous nous sommes intéressées dans ce travail, à évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits éthanolique et méthanolique des graines de *Myrtus communis* L. récolté dans la wilaya de Skikda.

Notre travail est réparti en deux parties :

- La première partie est relative à l'étude bibliographique subdivisée en 2 chapitres.
- Le premier chapitre : Etude botanique et l'huile essentielle de *Myrtus communis* L.
- Le deuxième chapitre : Les souches microbiennes testées et l'Activité antimicrobienne d'huile essentielle et les graines.
- La deuxième partie est relative à l'étude expérimentale présente deux chapitres.

Introduction

-Le premier chapitre est celui de matériel et méthode

-le deuxième chapitre est celui des résultats et discussion.

Partie bibliographique



Chapitre 01 :
étude botanique
et l'huile essentielle
de *Myrtus communis* L

Chapitre 01 : étude botanique et l'huile essentiel de *Myrtus communis* L

Chapitre 01 : étude botanique et l'huile essentiel de *Myrtus communis* L.

1-Etude botanique de *Myrtus communis* L.

1-l'importance des plantes médicinales

Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Il est d'abord intéressant de remarquer qu'environ 30 % des médicaments prescrits par les médecins sont d'origine naturelle. Cette proportion atteint même 50 % dans le cas des médicaments utilisés en oncologie. Cela montre l'importance de la nature comme source de principes actifs dans le domaine pharmaceutique. Les plantes médicinales, utilisées depuis des millénaires dans les médecines traditionnelles, suscitent aujourd'hui un regain d'intérêt en raison de leurs effets thérapeutiques souvent mieux tolérés que ceux de certains produits de synthèse. (Merabet et al.,2015).

2-Discription et étude botanique de *Myrtus communis* L.

2.1-Discription :

Le myrte commun (*Myrtus communis*) est une plante à feuillage persistant, caractérisée par des feuilles opposées et subsessiles (Mahmoud et al., 2010 ; Franceschini, 2016). Les feuilles sont coriaces, brillantes, de forme ovale à lancéolée, mesurant entre 3 et 5 mm de long et de 4 à 11 mm de large (Aleksic et Knezevic, 2014).

La floraison débute à partir du mois de Mai - Juin et peut aller jusqu'au mois d'Août. La plante produit des fleurs parfumées, solitaires et axillaires, de couleur blanche ou rose (Mahmoud et al., 2010 ; Aleksic et Knezevic, 2014 ; Gugliuzza et al., 2015). Les fleurs sont hermaphrodites, actinomorphes, et peuvent atteindre un diamètre maximal de 3 cm (Franceschini, 2016).

Le fruit est une baie sphérique dont la couleur varie du bleu rougeâtre au violet (Aleksic et Knezevic, 2014 ; Karzan et al., 2017).

Le fruit contient des graines réniformes, luisantes, de saveur résineuse, son goût est astringent et prononcé (Barboni ,2006), sont de petites graines de couleur jaune pale.

La figure suivante présent les fleurs, les feuilles, les fruite et les graines de *Myrtus communis* L. (Figures 01).

Chapitre 01 : étude botanique et l'huile essentiel de *Myrtus communis* L



a. Fleurs



b. Feuilles



c. Fruits



d. Graines

Figure 01 : *Myrtus communis* L. a. Fleurs, b. Feuilles, c. Fruits, d. Graines

2.2-Etude botanique :

La famille des Myrtacées appartient aux plantes dicotylédones et comprend plus de 5650 espèces réparties entre environ 48 et 134 genres. Elle regroupe principalement des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles essentielles (Govaerts et *al.*, 2008).

Selon Quezel et Santa (1963), les plantes de cette famille présentent des feuilles entières, simples et opposées. Les fleurs sont hermaphrodites et axillaires, avec un calice en forme de coupe. Les étamines sont très nombreuses et insérées avec les pétales au sommet du tube calicinal.

L'ovaire est infère ou semi-infère, composé de cinq carpelles uniloculaires contenant de nombreux ovules, avec une placentation axile. Les fruits sont de type baie, globuleux, bleuâtres, et mesurent entre 5 et 8 mm de diamètre.

3-Dénomination internationale de la plante :

Chapitre 01 : étude botanique et l'huile essentiel de *Myrtus communis* L

Selon les pays, le myrte commun se connu sous différentes dénomination (Goetz et Ghedira, 2012).

Arabe : *Arrayan* , , *rihan* الريحان, *A'as*, اس .

Français : *Myrte commun*, herbe du lagui.

Anglais : *Common Myrtle*, *Greek myrtle*, *myrtle*, *sweet myrtle*.

Berbère : *Tarihant*.

Corse : *Morta*, *mortula*.

Espagnol : *Arrayan*, *mirto*, *murta*, *murt*.

Allemand : *Brand-Myrte*, *Brautmyrte*, *Gewohnliche Myrte*.

Italien : *mirtella*, *mirto*, *mortella*, *mortin*.

Néerlandais : *Mirt*.

4- Position systématique de la plante : D'après (Grété, 1965).

Règne	Plantae
Sous-règne	Eucaryotes
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtacées</i>
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>Myrtus communis</i> L
Nom vernaculaire	Rayhan, Mersin

5-Domaine d'utilisation de la plante :

Chapitre 01 : étude botanique et l'huile essentiel de *Myrtus communis L*

5.1. Traditionnel

- *Myrtus communis L* a été traditionnellement utilisé en médecine folklorique comme antiseptique, désinfectante, anti-inflammatoire et hypoglycémique (**Gabri et al., 2016**).

- Les fruits de cette plante ont été utilisés en médecine populaire italienne dans le traitement de nombreux types de maladies infectieuses, y compris la dysenterie, aussi comme un rincebouche et pour le traitement de la candidose (**Gortzi et al., 2008**).

- Tandis que la décoction à partir des fruits est utilisée comme antidiarrhéique, antihémorroïdale et dans le traitement des maladies de la bouche et des yeux (**Ziyyat et al., 1997**).

- Sont traditionnellement utilisées contre les varices et pour la préparation de lotions capillaires (**Le Floch, 1983**).

- Dans l'Égypte ancienne, l'huile essentielle de *Myrtus communis.L* était utilisée dans le processus d'embaumement en raison de ses effets antimicrobiens qui assuraient une conservation pratiquement infinie du corps (**Bakkali et al., 2007 ; Bouzabata, 2017**).

5.2. Récente

. En médecine

- Les produits des *Myrtus communis L* sont utilisés par la bouche pour traiter les troubles neurologiques tels que l'épilepsie et les produits topiques sont principalement utilisés pour traiter les hémorroïdes et les maladies infectieuses (**Daneshfard et al., 2019**).

- En médecine grecque, les graines et les fruits sont utilisés sous forme de poudre et d'ébullition pour traiter la diarrhée, l'hémorragie, la gingivite, les menstruations et l'incontinence d'urine (**Daneshfard et al., 2019**).

- *Myrtus comminus L* est utilisé en médecine pour traiter un large éventail de troubles tels que les infections des voies urinaires, les problèmes digestifs, la bronchite, la sinusite et la toux sèche, la peau et les rhumatismes, polie, dysenterie et blessures internes, infections, dépression, glycémie (**Babak et al., 2015**).

- Les études ont déclaré que *Myrtus* a plusieurs effets de celui utilisé comme : antimicrobiens, antiviral, anti-cancer, antioxydants, anti-daibétique, activité hépatoprotectrice et neuroprotectrice, et anti-parasites, il est donc beaucoup utilisé en médecine (**Aleksic et al., 2014 ; Babak et al., 2015**).

- Les baies de *myrte* sont utilisées comme : antiseptiques, carminatives, analgésiques, cardiotoniques, diurétiques, stomachiques, stimulantes cérébrales (**Sumbul et al., 2011**).

Chapitre 01 : étude botanique et l'huile essentiel de *Myrtus communis* L

. En industrie agroalimentaire

- Il est utilisé comme épice pour les plats de viande, principalement en raison de sa bonne odeur (Ghasemi et al., 2011).

- Il peut servir de conservateur naturel à la viande de vache hachée (Wissal et al., 2019).

- Les baies et les feuilles sont utilisées pour produire des liqueurs bien connues (Messaoud et al., 2012).

- *Myrtus* est utilisé comme ajouts pour réduire la saveur de certains aliments (Aleksic et Knezevic, 2014).

Certaines parties de *Myrtus* sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour améliorer le goût de la viande et des sauces (Chalchat et al., 1998).

. En Cosmétologie et parfumerie

- Les huiles essentielles extraites de l'écorce, des feuilles et des fleurs de *myrtus* sont prisées en parfumerie, dans la fabrication de savons, de produits de soins de la peau (Traboulsi et al., 2002).

- L'huile essentielle,est utilisée grâce à ses propriétés de maintien comme un rince-bouche. En plus, de son utilisation dans les cosmétiques car il aide à tonifier et à raffermir la peau, contribuant ainsi à réduire les rides (Aleksic et Knezevic ,2014).

6-Répartition géographique :

Le genre *Myrtus* est le seul parmi les genres à être originaire des régions de la Méditerranée (Rameau et al., 2008).

Le myrte commun pousse au niveau de la mer à 500-800 m d'altitude (Migliore, 2011).

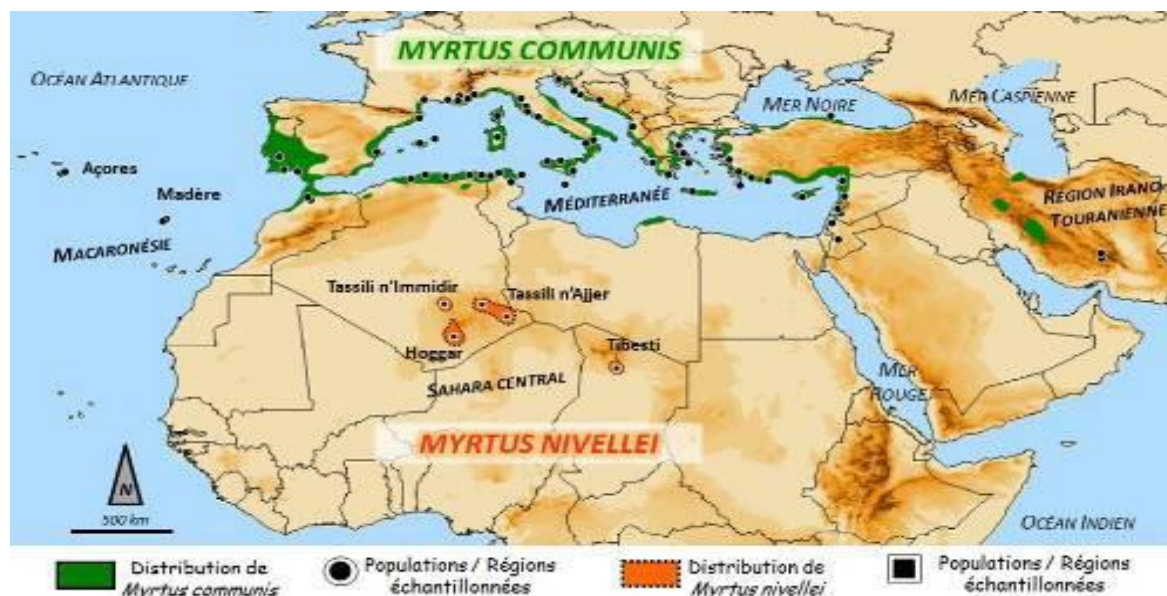


Figure 02 : Description du genre myrte dans le monde et en Algérie (Boudraa et al., 2024)

2-L'huile essentielle et extraction de *Myrtus communis* L.

1-Définition de l'huile essentielle :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes composés de diverses structures organiques. Elles se présentent sous forme liquide, volatile, claire et aromatique, et sont produites par les plantes aromatiques et médicinales en tant que métabolites secondaires (Bakkali et al., 2008). Ces huiles sont insolubles dans l'eau, mais se dissolvent dans l'alcool et d'autres solvants organiques. Bien qu'elles soient appelées « huiles », elles ne contiennent pas de corps gras ; ce terme fait référence à leur caractère hydrophobe, tandis que le mot « essentiel » souligne leur propriété odorante (Bouhdid, 2009).

Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle crucial dans la protection des plantes. Elles possèdent des propriétés antibactériennes, antivirales et antifongiques qui aident à lutter contre les maladies phytopathologiques. Elles contribuent aussi à la régulation des ravageurs et herbivores. Par ailleurs, elles attirent les insectes bénéfiques, favorisant ainsi la pollinisation et la dispersion des graines (Bakkali et al., 2008).

Ces huiles peuvent être produites par différents organes ou structures sécrétoires des plantes, comme les fleurs, feuilles, tiges, graines, fruits, racines, bois ou écorce. Elles sont stockées dans des cellules sécrétoires, des cavités ou conduits sécrétoires, ou encore dans des poils glandulaires, généralement situés à la surface ou à proximité de la plante (Burt, 2004 ; Bakkali et al., 2008 ; Solórzano et Miranda, 2012).

2-Caractéristiques des huiles essentielles :

Chapitre 01 : étude botanique et l'huile essentielle de *Myrtus communis* L

D'après Bruneton (1999), les huiles essentielles se distinguent par plusieurs propriétés :

- Elles possèdent des caractéristiques organoleptiques spécifiques, notamment leur odeur, couleur et aspect.
- La plupart sont des liquides fluides, dont la densité est souvent inférieure à celle de l'eau, sauf pour certaines essences comme la cannelle, le girofle et le safran.
- Certaines huiles essentielles présentent des couleurs particulières, telles que l'orange pour la cannelle, le vert pour l'absinthe et le bleu pour la camomille.
- Elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques (éther, alcools, hexane, pentane, etc.) et très peu solubles dans l'eau.
- Elles ont la capacité de dissoudre les graisses, l'iode, le soufre et le phosphore, et peuvent réduire certains sels.
- Leur indice de réfraction est élevé et elles possèdent un pouvoir rotatoire.
- Elles sont également caractérisées par différents indices chimiques, tels que l'indice d'acide, d'ester ou de carbonyle.

3-Composition chimique d'huile essentielle :

Les huiles essentielles sont des composés complexes dont la composition chimique varie selon l'organe végétal, les conditions climatiques, le type de sol, les pratiques agricoles et les méthodes d'extraction. Ces mélanges se composent principalement de deux grandes familles aux origines biosynthétiques distinctes : les terpénoïdes, comprenant les monoterpènes et les sesquiterpènes, et les composés aromatiques dérivés des phénylpropanes, comme l'alcool cinnamique, qui sont moins fréquents. On y trouve également des produits issus de la dégradation de composants non volatils tels que des acides, alcools, aldéhydes et esters (Lanseur, 2017).

3.1. Terpénoïdes : Ce groupe de métabolites secondaires, le plus abondant et diversifié, est formé d'hydrocarbures hydrophobes issus de la condensation d'unités d'isoprène (C₅H₈). Selon le nombre d'unités, on distingue les monoterpénoïdes (C₁₀), les sesquiterpénoïdes (C₁₅) et les diterpénoïdes (C₂₀). Les huiles essentielles contiennent majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes (Abbes, 2014).

3.2. Monoterpènes : Constitués de 10 carbones (2 unités d'isoprène), ils se divisent en acycliques, monocycliques et bicycliques. Ils peuvent être des hydrocarbures simples ou porter des groupes fonctionnels comme alcools, aldéhydes ou cétones. Ils représentent environ 90 % de la composition des huiles essentielles (Ludwiczuk et al., 2017).

Chapitre 01 : étude botanique et l'huile essentielle de *Myrtus communis* L

3.3. Sesquiterpènes : Moins volatils que les monoterpènes, ils sont formés de trois unités d'isoprène et présentent une grande diversité structurale (linéaire, monocyclique, bicyclique, tricyclique). Ils constituent le deuxième groupe le plus abondant dans les huiles essentielles (**Thormar et Hilmarsson, 2011**).

3.4. Composés aromatiques : Ces composés, dérivés du phénylpropane, sont moins nombreux que les terpènes. Ils incluent des phénols (chavicol, eugénol), des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamylique) et des dérivés méthoxylés ou méthylènedioxylés (anéthol, safrole) (**Mnayer, 2014**).

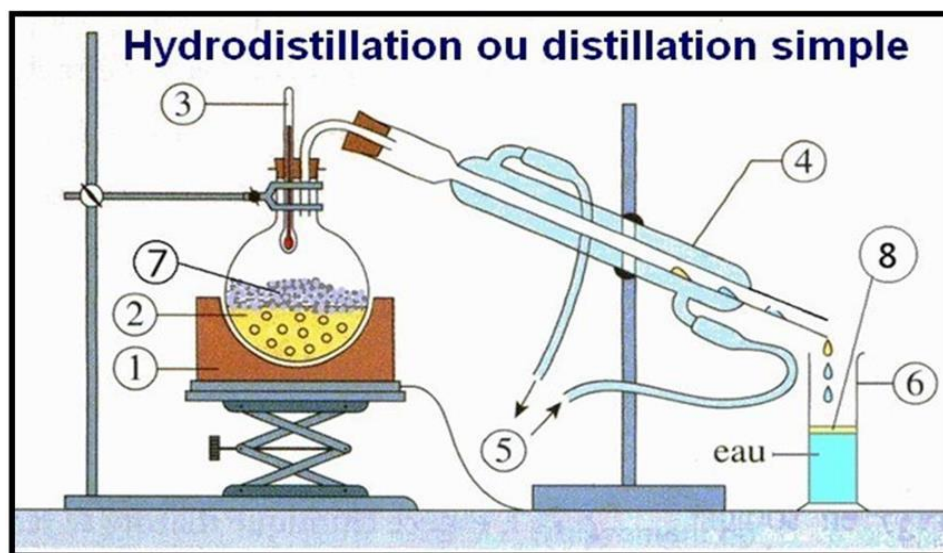
3.5. Polyphénol : très puissants, à utiliser avec précaution. Antibactériennes, antivirales, stimulantes.

4-Techniques d'extraction d'huile essentielle :

Plusieurs méthodes de distillation sont utilisées pour extraire les huiles essentielles, parmi lesquelles :

4.1. Hydrodistillation :

Proposée par **Garnier en 1891**, c'est la méthode la plus courante. Elle consiste à immerger la plante dans de l'eau portée à ébullition. La vapeur d'eau entraîne les composés aromatiques qui se condensent ensuite sur une surface froide. L'huile essentielle se sépare alors de l'eau grâce à leur différence de densité.



1 : Chauffe-ballon

2 : Eau bouillante

3 : Thermomètre

4 : Réfrigérant à l'eau

5 : Arrivée d'eau froide et sortie d'eau tiédie

6 : Epreuve graduée

7 : Matière à extraire l'essence

8 : Huile Essentielle

Figure 03 : Schéma du principe de la technique d'Hydrodistillation (**Lucchesi, 2005**).

4.2. L'expression à froid

Utilisée surtout pour extraire les huiles des péricarpes (ex. agrumes), cette méthode mécanique déchire les cellules sécrétrices pour libérer l'essence, récupérée ensuite par décantation.

4.3. Distillation à la vapeur

La vapeur passe à travers la matière végétale sans contact direct avec l'eau bouillante. Elle libère les huiles essentielles, qui sont ensuite condensées et séparées par décantation.

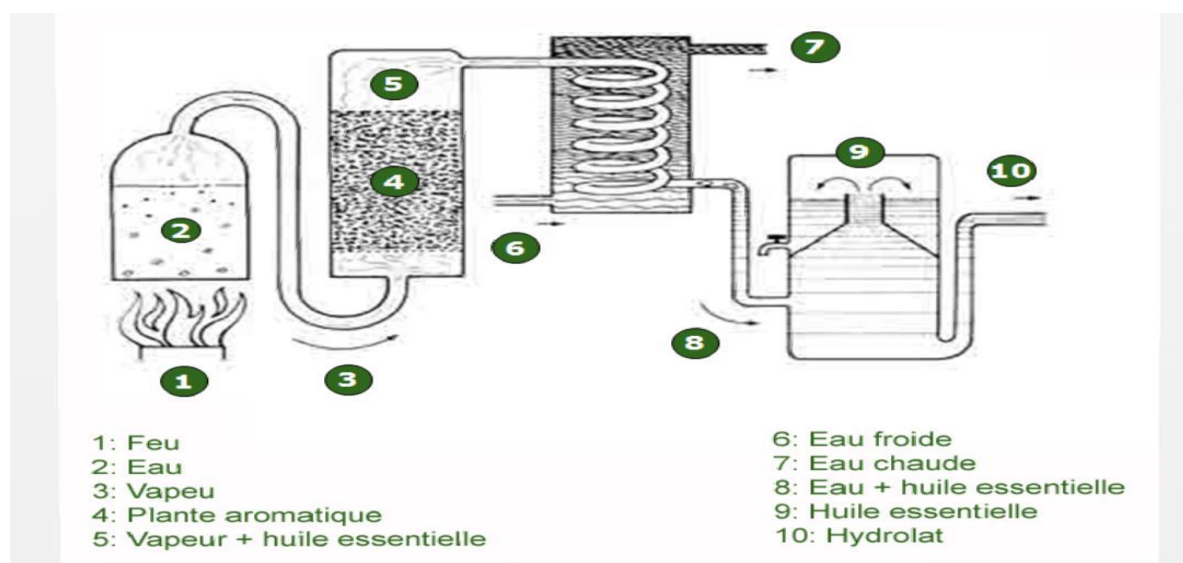


Figure 04 : Montage d'extraction des HEs par entraînement à la vapeur d'eau (Moro et Buronzo, 2008).

4.4. Hydro-diffusion à la percolation

La vapeur d'eau est injectée de haut en bas à travers la biomasse, contrairement aux méthodes classiques où elle monte. Cette technique améliore la qualité et le rendement, tout en réduisant le temps et la consommation d'énergie.

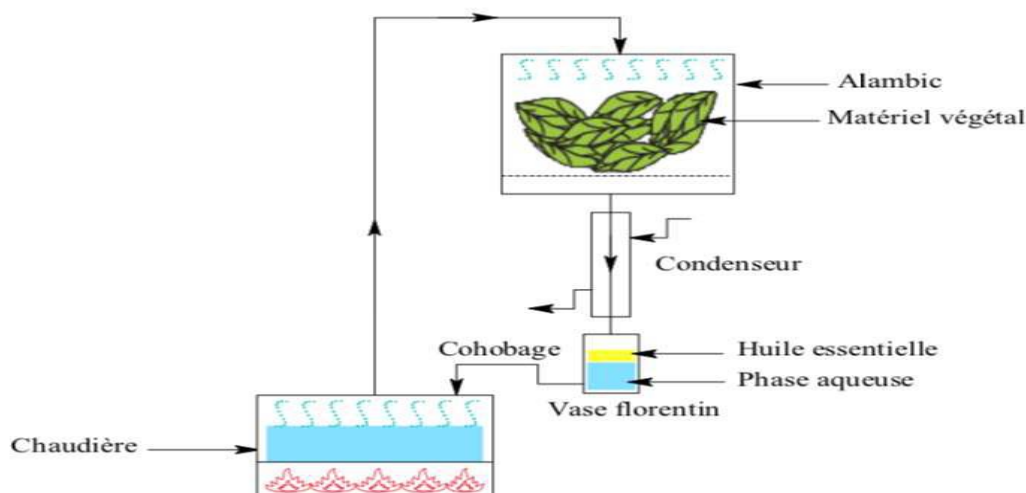


Figure 5 : Schéma du dispositif de l'hydro-diffusion (Chenni, 2016).

4.5. Extraction par solvants : Les composés aromatiques sont dissous dans un solvant organique à bas point d'ébullition, ensuite éliminé par distillation sous vide. Cette méthode est coûteuse et peut entraîner des résidus de solvants dans le produit final.



Figure 6 : Technique d'extraction par solvant (Anonyme 2, 2010)

4.6. Extraction par micro-ondes : Technique récente où la plante est chauffée par micro-ondes sous vide, ce qui accélère l'extraction tout en préservant la qualité des huiles. Une variante, la SFME, combine micro-ondes et distillation sèche pour une extraction plus rapide et écologique. Ces méthodes varient en rendement, qualité des huiles extraites, temps et coûts, chacune présentant des avantages spécifiques selon la plante et l'usage final.

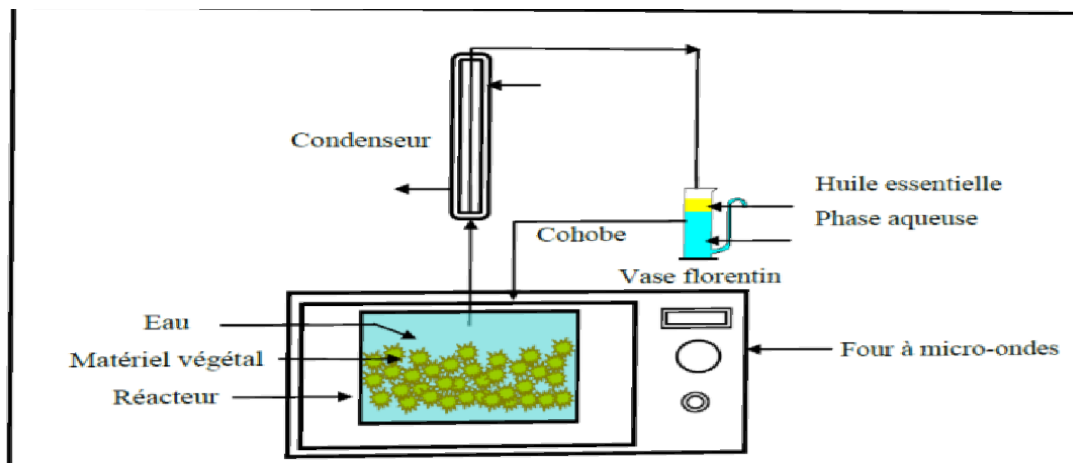


Figure 07 : Montage d'extraction assistée par micro-onde (Bruneton, 1999)

4.7. Autres méthodes :

Extraction au CO₂ supercritique

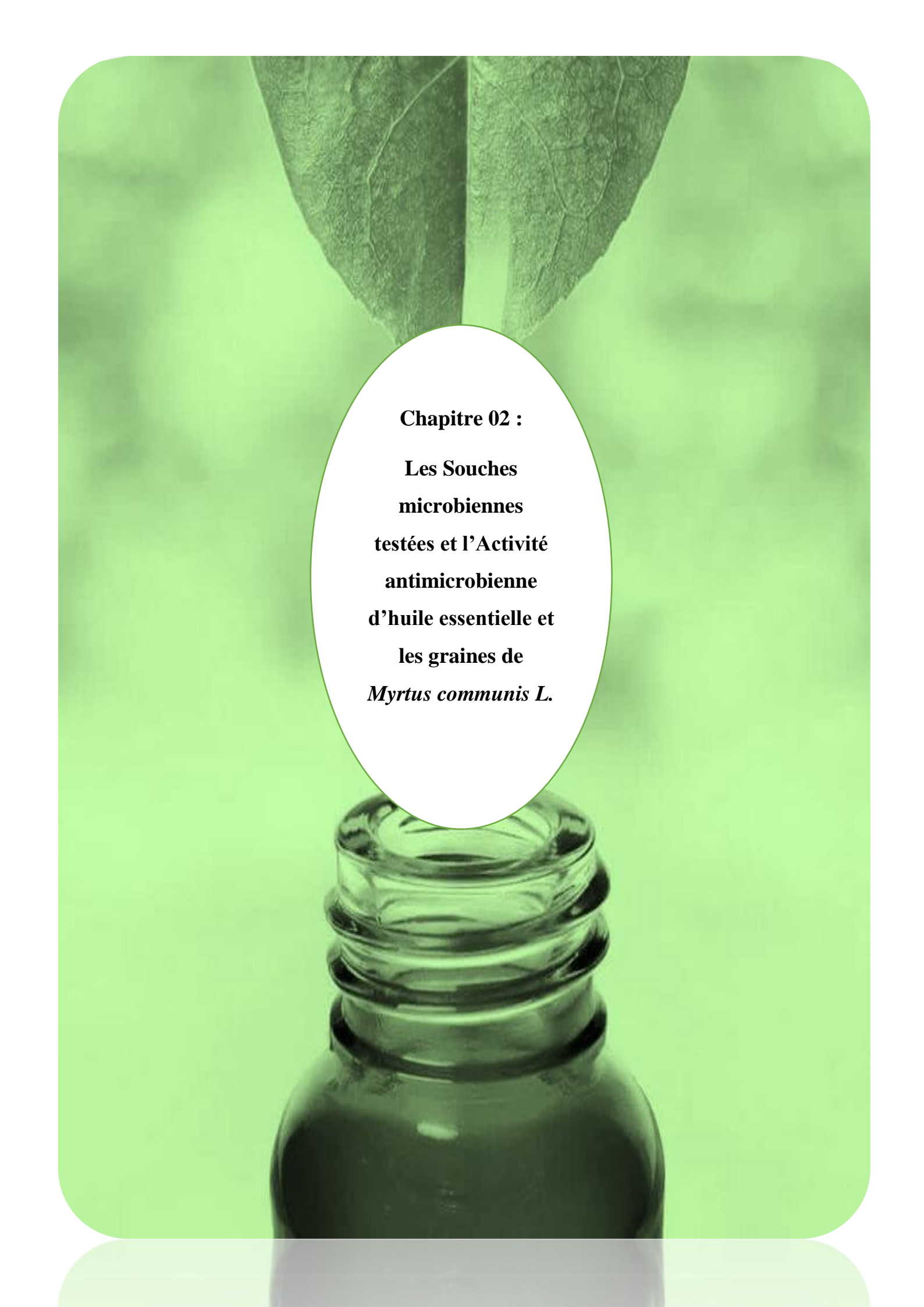
L'enfleurage

5-La toxicité des huiles essentielles :

Quelques huiles essentielles peuvent être nuisibles pour la peau en raison de leur caractère irritant (huiles contenant une forte concentration de thymol ou de carvacrol), allergène (huiles à haute teneur en Cinna-aldéhyde) ou photo-toxique (huiles d'agrumes qui renferment des fur-coumarines (Smith et al.,2000). Certaines autres huiles essentielles possèdent un effet neurotoxique (Piochon, 2008). Certaines huiles essentielles contiennent des composés qui peuvent provoquer la formation de cancers (Homburger et Boger, 1968).

6-La conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles, en raison de leur évaporation rapide et de leur sensibilité à l'air et à la lumière, doivent être conservées dans des flacons en verre opaques, hermétiquement fermés, pour préserver leurs propriétés (Valnet, 1984).



Chapitre 02 :
**Les Souches
microbiennes
testées et l'Activité
antimicrobienne
d'huile essentielle et
les graines de
*Myrtus communis L.***

Chapitre 02 : Les souches microbiennes testées et l'Activité antimicrobienne d'huile essentielle et les graines de *Myrtus communis L*

Chapitre 02 : Les souches microbiennes testées et Activité antimicrobienne d'huile essentielle et les graines de *Myrtus communis L*.

1-Les souches microbiennes testées :

1-Les souches bactériennes :

1.1. Les souches cliniques :

**Escherichia coli*

La bactérie *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois en 1885 après avoir été isolée dans des selles de nourrissons par l'allemand Theodor Escherich. Son nom actuel lui est ensuite donné en 1919 par Castellani et Chambers (**Grimont, 1987**).

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs immobile ou mobile avec une structure flagellaire, non-sporulée, les nitrates et qui ne possèdent pas d'oxydase (**Le Minor et al., 1990 ; ISO 16654 :2001**), et souvent utilisé comme indicateur de la pollution fécale de l'eau (**Tenaillon et al., 2010**).

1.1.1. Taxonomie :

Domaine : *Bactéria*

Règne : *Procaryotae*

Embranchement : *Proteobacteria*

Classe : *Gamma Proteobacteria*

Ordre : *Enterobacteriales*

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia coli* (**Bergey's manual, 2012**).

1.1.2. Habitat :

a. Habitat primaire : *E.coli* est l'organisme aérobie prédominant dans le tractus gastro-intestinal (**Tenaillon et al., 2010 ; Touchon et al., 2020**). Se niche plus particulièrement dans le mucus recouvrant les cellules épithéliales de la paroi du tube digestif (**Smati et al., 2015**).

b. Habitat secondaire : Des études récentes ont montré que cette bactérie peut survivre pendant de longues périodes en dehors du tractus intestinal et se reproduire dans l'eau, le sol, le sable et les sédiments, dans les

Chapitre 02 : Les souches microbiennes testées et l'Activité antimicrobienne d'huile essentielle et les graines de *Myrtus communis L*

climats tropicaux, subtropicaux et tempérés, et est souvent déchargé dans l'environnement par des fèces ou des effluents des eaux usées (Ishii et Sadowsky, 2008 ; Berthe et al., 2013 ; Blount, 2015).

1.1.3. Pouvoir pathogène :

Elles possèdent la caractéristique d'être des bactéries polyvalentes et sont à l'origine de la grande majorité des infections des voies urinaires, l'une des principales causes de bactériémie chez l'adulte et la deuxième cause de méningite néonatale. La recrudescence inquiétante de la résistance aux antibiotiques parmi les souches Ex-PEC, l'échec du traitement, l'hospitalisation, la mortalité, ainsi que des coûts croissants pour les soins de santé (Meziani ;2023).

**Staphylococcus Aureus*

Les staphylocoques ont été identifiés comme agents pathogènes au 19e siècle. En 1881, sir Alexander ogston les observe dans du pus sous forme de grappes et les nomme staphylococcus, en référence à leur forme rappelant une grappe de raisin (Licitra, 2013 ; Orenstein, 2013).

Les staphylocoques sont des Cocci à Gram positif, de forme sphérique et de taille comprise entre 0,5 et 1,5 µm de diamètre. Ils sont immobiles et asporulés, apparaissant seules, par paires ou en grappes irrégulières ressemblant à des grappes de raisin (Sato et al., 2019 ; Rasheed et Hussein, 2021).

1.1.1. Taxonomie :

Règne : *Bacteria*

Phylum : *Firmicutes*

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (Gajdacs, 2020).

1.1.2. Habitat :

S.aureus c'est un ubiquitaire qui se trouve dans le sol, l'air. C'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve à l'état normal dans :

- l'oropharynx.

Chapitre 02 : Les souches microbiennes testées et l'Activité antimicrobienne d'huile essentielle et les graines de *Myrtus communis L*

- les fosses nasales.

- les selles au niveau du périnée ou des aisselles (**Fouchère, 2002**)

1.1.3. Pouvoir pathogène :

S.aureus est le microbe de la suppuration, capable d'envahir les tissus et de produire des toxines.

-Elle peut devenir résistante aux antibiotiques

-Elle cause des lésions purulentes et nécrotiques, parfois avec atteinte veineuse.

-Elle est responsable de plusieurs types d'infections :

°cutanée (furuncles, abcée, panaris, anthrax).

°ORL et bucco-dentaires.

°Viscérales, urinaires, génitales, respiratoires et cardiaques (endocardites).

°Intoxications alimentaires par entérotoxines (**Gean, 2002**).

1.2. Souche de référence :

Les souches bactériennes de référence sont définies comme tout micro-organisme acquis à partir d'une collection de cultures reconnue. Elle constitue l'étalon qui permet de lui comparer d'autres souches.

Différents noms sont attribués aux souches de référence, dans diverses publications du CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) et de l'USP (United States Pharmacopeial). Il existe plusieurs désignations en fonction de l'organisation telle que : ATCC (American Type Culture Collection), et NCTC (National Collection of Type Cultures) (**Microbiology Clinic Web Site 2**).

**Pseudomonas aeruginosa*

En 1882, Carle Gessard a découvert *P. aeruginosa*, une bactérie produisant un pigment bleu-vert appelé pyocyanine. Par conséquent, nommée aussi « bacille pyocyanique », Et signifie «la mauvaise cellule verte » en grec et en latin (**Stephen et al., 2020 ; Gadiri et al., 2023**).

C'est un Bacille à gram négatif, mobile à ciliature polaire monotriche, caractérisé par la pigmentation bleu-vert, sporulé, température optimale : 30 à 43°C, PH optimal 6.5-8, aérobic strict, chimioorganotrophe, oxydas+, catalase+, gaz -, géatue + et psychrotrophe (**Fouchère et al., 2002**).

1.1.1. Taxonomie :

Chapitre 02 : Les souches microbiennes testées et l'Activité antimicrobienne d'huile essentielle et les graines de *Myrtus communis* L

Règne : *Bacteria*

Division : *Pseudomonadota*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Pseudomonadales*

Famille : *Pseudomonadaceae*

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *P. aeruginosa* (Geannot 2019)

1.1.2. Habitat

P. aeruginosa c'est une bactérie répandue dans la nature. Elle vit dans l'eau et sur le sol. On la trouve aussi dans l'environnement hospitalier, surtout dans les endroits humides de lavabos, des savons liquides, des humidificateurs, et des solutions d'antiseptiques (chlorhexidine chlorure de benzalkonium, cétrimide notamment). *Pseudomonas aeruginosa* se trouve dans le tube digestif et plus rarement dans la salive (Fouchère et al., 2002).

1.1.3. Pouvoir pathogène

-*P. aeruginosa* est une bactérie résistante à de nombreux antibiotiques.

-Elle produit une enzyme appelée céphalosporinase, qui lui confère une résistance naturelle aux céphalosporines.

-Elle est également résistante aux aminopénicillines.

-Elle possède des systèmes d'efflux actifs qui expulsent les antibiotiques hors de la cellule en utilisant l'énergie de la membrane plasmique, ce qui renforce sa résistance. (Delarras, 2007).

On utilise les souches de référence suivantes : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25932, *E.coli* ATCC 25922.

2-Souche fongique

**Candida albicans*

Candida albicans est un champignon unicellulaire, constitué de blastospores (des cellules dont le bourgeonnement est de type blastique). Ces cellules sont de forme ronde à ovale, pouvant bourgeonner ou non, et peuvent produire soit un pseudo-filament (faux filament), soit un filament véritable. Elles possèdent

Chapitre 02 : Les souches microbiennes testées et l'Activité antimicrobienne d'huile essentielle et les graines de *Myrtus communis L*

une paroi fine, une membrane cytoplasmique, ainsi qu'une grande vacuole et un noyau à l'intérieur (**Gazard et al., 2021**).

2.1. Taxonomie :

La classification de *Candida* selon **Berkhout en 1923**.

Règne : *Fungi*

Division : *Ascomycota*

Classe : *Saccharomycetes*

Ordre : *Saccharomycetales*

Famille : *Saccharomycetaceae*

Genre : *Candida*

2.2. Habitat :

Les levures du genre *Candida* sont omniprésentes dans l'environnement, étant fréquemment isolées dans l'air, le sol, les fruits, les produits alimentaires, les produits laitiers et les céréales. Chez l'homme, elles colonisent divers sites, vivant en commensalisme sur les muqueuses digestives, les voies respiratoires supérieures, le système génito-urinaire, ainsi que sur la peau (**Gazard et al., 2021**).

2.3. Pouvoir pathogène :

Les levures du genre *Candida* sont responsables de plus de 80 % des infections fongiques à levures chez l'humain. *Candida albicans*, en particulier, est impliqué dans environ 90 % de ces cas et constitue l'espèce la plus couramment associée aux candidoses digestives et génitales (**Gazard et al., 2021**).

2-Activité antimicrobienne :

La majorité des études se sont concentrées sur l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle (HE) extraite principalement des feuilles.

2.1. Activité antibactérienne :

Les effets de l'huile essentielle de *Myrtus* sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif ont été étudiés dans plusieurs travaux. Les recherches menées par **Owlia et al., 2009** ont révélé que les bactéries à

Chapitre 02 : Les souches microbiennes testées et l'Activité antimicrobienne d'huile essentielle et les graines de *Myrtus communis L*

Gram positif étaient plus sensibles à l'huile essentielle de *Myrtus* que les bactéries à Gram négatif (Owlia et al.,2009).

Les travaux réalisés par Rosato et al, 2007 et Akin et al., 2010 ont démontré que l'huile essentielle de *Myrtus communis* possède une activité inhibitrice contre sept bactéries pathogènes, tant Gram positives que Gram négatives. Ces bactéries comprennent *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa ATCC*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus ATCC*, *Escherichia coli ATCC* (Rosato et al.,2007 ; Akin et al., 2010).

2.2. Activité antifongique :

Mahboubi et Bidgoli 2010 ont examiné l'efficacité antifongique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Myrtus communis* contre différentes souches de *Candida albicans*. Les résultats de leur étude ont démontré que l'huile de *Myrtus* présentait une activité antifongique satisfaisante contre les champignons.

Partie expérimentale



Chapitre 01 : **Matériel et méthodes**

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

1. Matériel

1-1- Matériel non biologique :

Le matériel non biologique utilisé dans ce travail est répertorié dans le **tableau 02** ci-dessous.

Tableau 01 : Matériel non biologique

Appareillage :	Verreries et autres :	Réactifs et solutions :
Bec Bunsen	Tubes à essai	Eau distillé stérile
Bain marie	Pipettes Pasteur	Eau physiologique
Étuve	Boîtes de Pétri (90 mm et 60 mm)	Bouillon Mueller Hinton
Microscope	Anse de platine	Bouillon Sabouraud
Autoclave	Lame et lamelle	Bouillon Nutritif
Réfrigérateur	Micropipette	Milieus de culture (Chapman, Hektoen, Sabouraudet, Mueller Hinton)
L'appareil d'extraction (Distillateur inox 50 litr INOX 304)	Ampoule à décantation	Fuchsine
Appareil de filtration	Écouvillons	Lugol
Haute	Pinces	Violet de Gentiane
	Papier Whatman	Alcool
	Embouts	Bleu de Méthylène
	Tubes Eppendorfs	DMSO
	Seringue	Alcool d'éthanol et méthanol
		Tween 80
		Huile d'immersion

1-2- Matière biologique :

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

1-2-1-Matière végétale :

Dans ce travail on a utilisé : Les graines et les feuilles du *Myrtus communis L.*

a. Critères de choix de la plante

Le myrte est une plante annuelle à feuilles persistantes originaire du Bassin méditerranéen, est une espèce vénérée pour ses propriétés médicinales et aromatiques. Depuis l'Antiquité, elle occupe une place de choix dans la médecine traditionnelle, notamment chez les Grecs, les Romains et les Arabes. Ses huiles essentielles sont connues pour leurs activités antimicrobiennes, déjà étudiées dans des travaux précédents.

b. Récolte

□ les feuilles du *Myrtus communis L* a été récoltée le 12 mars à 11h30 au niveau de la région de la Toummiat El harouch wilaya de Skikda.

□ Les graines du *Myrtus communis L* a été récoltée le 04 février au niveau de la région Es Sebt Azzaba de la wilaya de Skikda. (Tableau 02).

Tableau 02 : Les paramètres géographiques des régions de récolte

	Les graines du <i>Myrtus communis L</i>	Les feuilles du <i>Myrtus communis L</i>
Station	Es Sebt Azzaba	Toummiat El harouch
Wilaya	Skikda	Skikda
Latitude	36° 44 ' 21.98" Nord	36° 36 ' 09 " Nord
Longitude	25 ° 7 ' 57.82 " Est	6° 51 ' 09 " Est
Altitude	256 m	469,75m
Zone climatique	Climat méditerranéen	Climat méditerranéen

c. Séchage

Les feuilles et les fruits du *Myrtus* ont été bien lavés avec l'eau distillée pour éliminer les impuretés et garantir la pureté et la qualité de l'huile essentielle extraite, puis séchées à l'aire libre à l'ombre jusqu'à la dessiccation complète (14 jours) (**figure 08, 09**).

Chapitre 01 : Matériel et méthodes



a. Fraiche

b. Sèche

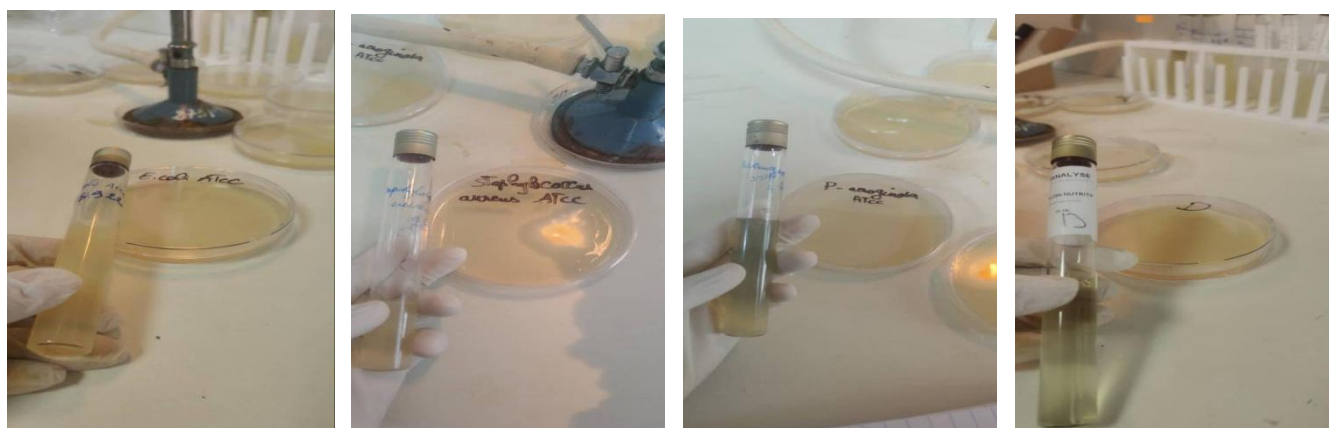
Figure 08 : Les feuilles du *Myrtus* a, b (Prise personnelle)



Figure 09: les graines du *Myrtus* (Prise personnelle)

I.2.2 Les microorganismes testées

Dans notre étude, 5 souches bactériennes souvent résistantes aux antibiotiques ont été testées et une souche fongique. Deux souches d'origine clinique (**Tableau 04 et 05**) et quatre souches de référence ATCC (**Figure 10**). Et ceci afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits des graines et feuilles du *Myrtus communis* L.



a - *E.coli* ATCC

b- *S.aureus* ATCC

c- *P. aeruginosa* ATCC

d- *C.albicans* ATCC

25922

25923


27853

91234


Figure10 : Les souches de référence ATCC (Prise personnelle)

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

Tableau03 : Tableau de l'antibiogramme des souches testées.

		<i>Staphylococcus aureus</i> (pus)	
Antibiotique	Diamètre (mm)	Résultat	Figure
PEN	/	R	
OXA		R	
FOX		R	
IPM		S	
AMK		S	
KAN		S	
TOB		R	
GEN		R	
ERY		S	
CLA		S	
AZM		S	
SPT		R	
LIN		R	
CLI		S	
PRM		R	
OFL		S	
CIP		S	
DOX			
FUS			
CHL			
SXT			
FOS			

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

VAN			
<i>Escherichia coli</i> (Urine)			
Antibiotique	Diamètre (mm)	Résultat	Figure
AK30	20	S	
CN120	18	S	
TR10	6	R	
OF5	24	S	
CTR30	6	R	
TIM85	6	R	
CAZ30	6	R	
AM10	6	S	
FA10	6	SI	
CIP5	16	R	
C30	10	R	
AZM15	19	R	
L2	6	R	
L15	6	R	
RIF5	6	R	
P10	6	R	
E15	6	R	

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

Tableau 04 : Origine des souches microbiennes testées

Souches microbiennes	Gram	Nature du prélèvement	Numéro ATCC
Souches bactériennes cliniques :			
<i>Escherichia coli</i>	Négative	Urine	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positive	Pus	
Souches bactériennes de référence :			
<i>Escherichia coli</i>	Négative	Institut Pasteur	25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positive	Institut Pasteur	25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négative	Institut Pasteur	27853
Levure :			
<i>Candida albicans</i>		Institut Pasteur	91234

Conservation des souches

Les souches ATCC et les souches cliniques ont été conservées à + 4 °C dans la gélose nutritive inclinée dans des tubes à essai.

2. Méthodes

2.1. Extraction d'huile essentielle.

a. Protocole d'extraction d'huile essentielle.

- 1•Remplir le fond de l'alambic avec 15 litres d'eau. (**Figure 11**)
- 2•Placer 8 kg de matière végétale sèche sur une grille en inox, sans contact direct avec l'eau.
- 3•Chauffer l'alambic au gaz pendant environ deux heures.

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

4•L'eau bout, générant de la vapeur qui traverse la matière végétale, entraînant les composés volatils et libérant les molécules aromatiques en détruisant la structure cellulaire.

5•La vapeur chargée d'huile essentielle est condensée dans un condenseur.

6•Le condensat, mélange d'hydrolat et d'huile essentielle, est recueilli dans une bouteille en verre.

7•L'huile essentielle, moins dense, surnage à la surface de l'hydrolat.

8•À l'aide d'une pipette, prélever la couche d'huile essentielle partiellement mélangée.

9•Utiliser une ampoule à décanter pour isoler l'huile essentielle pure. **(Figure 12)**



Figure 11 : L'appareil d'extraction (Distillateur inox 50 litre INOX 304) **(prise personnelle)**



1 - 2



- 2



3 - 4 - 5



Chapitre 01 : Matériel et méthodes

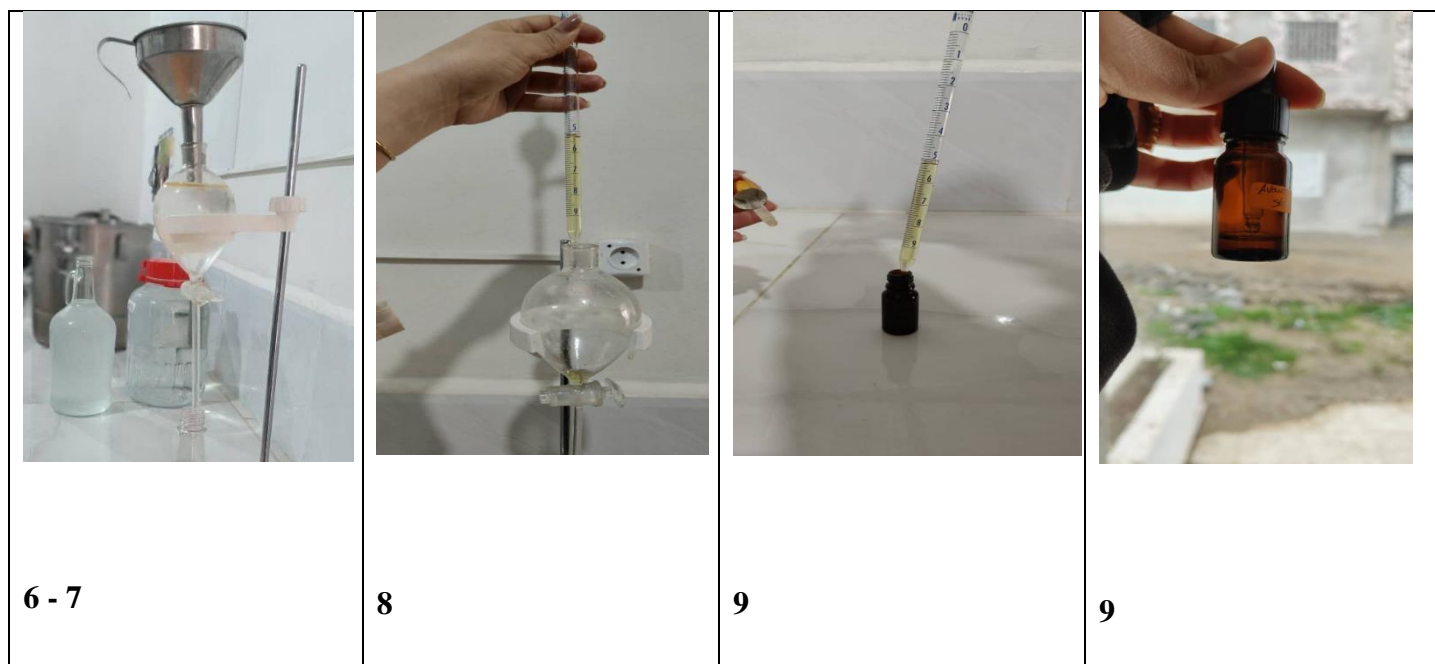


Figure 12 : Préparation de l'extrait d'huile essentielle (prise personnelle)

b. Conservation.

L'huile essentielle pure est placée dans un flacon sombre et conservée au réfrigérateur à environ +4°C, afin de la protéger de la lumière et de la chaleur (Chebaibi et al., 2016).

c. Détermination du rendement de l'huile essentielle.

Le rendement est le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue en grammes (g) et la masse de la matière végétale sèche en grammes (g). (Chantal et al., 2015).

Il est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{RHE} = (\text{MHE} / \text{MV}) * 100$$

RHE : le rendement en huile essentielle en (%).

MHE : la masse d'huile essentielle en (g)

MV : matière végétale en (g).

2.2. Préparation de l'extrait éthanolique et méthanolique des graines de *Myrtus communis* L.

a. Protocole d'extraction.

Nous avons le même protocole pour les deux solvants :

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

- Mélangez 10 g de poudre des graines de *myrtus communis L.* avec 100 ml de solvant d'extraction éthanol (méthanol).

-Agitez le mélange de *Myrtus* pendant 2h (Miaga, 2022).

-Filtrer le mélange sur papier filtre (papier Whatman).

-Eliminez le solvant a pression réduite à 75C° à l'aide l'évaporateur rotatif.

-Séchez l'extrait dans l'étuve pendant 24h à 35C°.

-Conservez à l'extrait sec au réfrigérateur pour les tests utiliser.

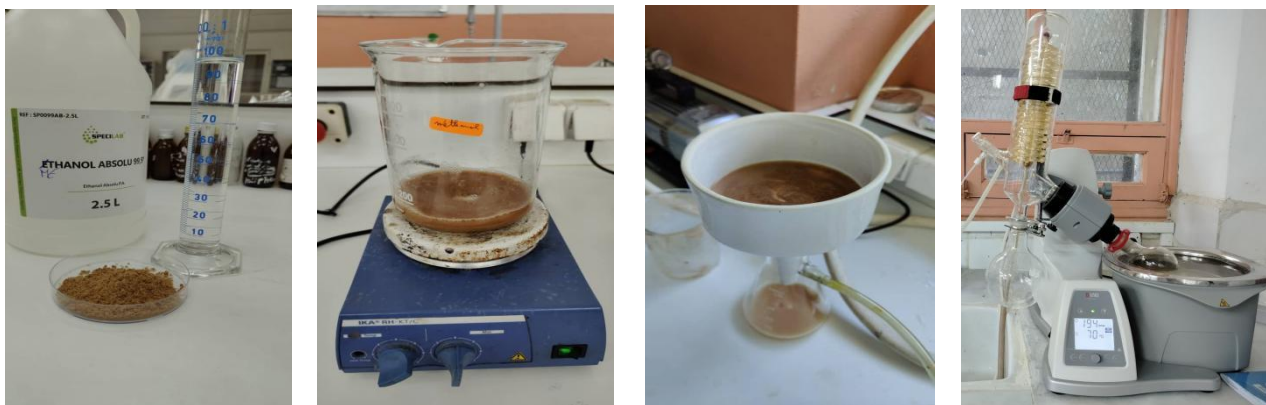


Figure 13 : Protocole de l'extrait Ethanolique et Méthanolique de *Myrtus communis L* (prise personnelle)

b. Conservation de l'extrait.

L'extraction sec est ensuite récupérée et conservée au réfrigérateur (+4 °C) dans des boîtes en verre et fermée.

c. Détermination du rendement de l'extrait.

Le rendement a été calculé à partir de l'équation suivante : (Stanojovic et al., 2009).

$$\text{Rendement \%} = (P1 / P2) * 100$$

P1 : poids de l'extrait après l'évaporation.

P2 : poids du matériel végétal sec.

2.3. Revivification et identification des souches microbiennes :

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

a. Enrichissement et revivification des souches

*Enrichissement des souches

Les souches bactériennes conservées ont été cultivées dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon nutritif, puis elles ont été incubées à l'étuve pendant 24 h à une température de 37°C.



1



2



3



4

Figure 14 : Protocole de l'enrichissement des souches microbiennes (**prise personnelle**)

*Revivification des souches

La revivification des souches, une étape nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle à l'état conservé. Cette revivification a pour objectif l'obtention d'une culture jeune et pure :

□ Tout d'abord, une goutte de bouillon de la souche enrichie est ensemencée en stries dans un milieu spécifique qui a été préalablement coulé et solidifié dans des boîtes de Pétri. Différents milieux sont utilisés selon le Gram des bactéries : la gélose de Chapman est utilisée pour les bactéries Gram positives (*S. aureus*), l'Hektoen pour les bactéries Gram négatives (*E. coli*, *P.aeruginosa*), et Sabouraud pour la levure (*C. albicans*).

□ Une fois que les boîtes de Pétri ont été ensemencées, elles sont placées dans une étuve à une température de 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 30°C pendant 48 heures voire jusqu'à 5 jours, pour la levure. Pendant cette période d'incubation, se développent et forment des colonies distinctes sur la gélose (Djadi et al., 2014) (figure 15).

Chapitre 01 : Matériel et méthodes



1

2

3

4

Figure 15 : Protocole de revivification des souches microbiennes. (prise personnelle)

b. Identification des souches

*Observation macroscopique

L'étude macroscopique permet de décrire les cultures bactériennes sur divers milieux, et la caractérisation macroscopique, permet de décrire l'aspect des colonies (la taille, la forme, la couleur). Obtenues sur milieu après 24h et 48h d'incubation à 37°C et 30°C et de déterminer les critères relatifs où l'aspect des colonies dépend du milieu utilisé de la durée et de la température de l'incubation.

Il ne pourra être décrit convenablement qu'à partir de colonies bien isolées : les colonies sont d'autant plus petites qu'elles sont rapprochées.

*Observation microscopique

*1*Coloration de Gram

La coloration de Gram est la technique de coloration différentielle la plus fréquemment employée en microbiologie. Elle permet de distinguer les bactéries présentes dans un échantillon en fonction de leurs formes (paires, groupes, chaînes...) et de leur capacité à réagir avec des colorants. Cette méthode de coloration affine la caractérisation des bactéries en les classant en bactéries à Gram positif ou à Gram négatif, ainsi qu'en bacilles ou en coques selon leur morphologie.

-Fixation du frottis

. À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, déposer une goutte de solution physiologique stérile au centre d'une lame de microscope propre et sèche.

. Prélever une colonie bactérienne bien isolée à l'aide d'une anse de platine stérile, puis l'homogénéiser soigneusement dans la goutte de solution physiologique sur la lame, de manière à obtenir une suspension uniforme.

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

. Passer délicatement la lame, face inférieure vers la flamme, plusieurs fois au - dessus du bec Bunsen pour fixer l'échantillon par la chaleur, sans brûler ni altérer les structures cellulaires.

-Procédure de coloration

- On dépose quelques gouttes de solution de violet de Gentiane sur le frottis fixé et laisser agir pendant 1 minute (Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries).
- On rince avec de l'eau de robinet et éliminer l'excès.
- On recouvre de Lugol et laisser agir pendant 1 minute.
- On rince avec de l'eau et éliminer l'excès.
- On décolore à l'alcool (la durée de la décoloration dépend de l'épaisseur du frottis).
- On stoppe la décoloration par un nouveau rinçage à l'eau.
- On fait une contre-coloration avec la Fuchsine pendant 1 minute.
- On rince avec de l'eau.
- On laisse la lame sécher à l'air.
- On place une goutte d'huile à immersion sur la lame.
- On examine à l'aide d'un objectif à immersion (100 x).

Les bactéries • Gram positif doivent apparaitre colorées en violet et les bactéries • Gram négatif en rose.

2*Coloration au bleu de méthylène pour *Candida albicans

-Principe

C'est une coloration simple, qui colore tous les champignons et permet de renseigner sur : la forme des champignons, la taille, le mode de regroupement (les structures colorables apparaissent bleues)

-Mode opératoire

Elle est réalisée comme suite :

- Couler une solution de bleu de méthylène sur un frottis correctement fixé pendant 1 minute.
- Rinçage à l'eau de robinet.
- On sèche la lame à l'air
- Observation au microscope optique aux objectifs (x100), après l'immersion dans l'huile.

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

2.4. L'activité antimicrobienne d'huile essentielle et l'extrait éthanolique et méthanolique :

1.L'aromatogramme

-Principe

L'aromatogramme est une technique microbiologique dérivée de l'antibiogramme, visant à évaluer l'activité inhibitrice des huiles essentielles ou des produits à base d'huiles essentielles contre la croissance microbienne. Le principe repose sur la mesure du diamètre de la zone d'inhibition formée autour d'un disque de papier stérile imprégné d'huile essentielle, placé sur un milieu de culture ensemencé avec la souche microbienne cible. La taille de cette zone reflète le potentiel antimicrobien de la substance testée (Mouadjdia et Seridi, 2014).

a. Par l'huile essentielle

*préparation de dilution

Quatre dilutions de l'huile essentielle ont été préparées dans des tubes eppendorf stériles, en utilisant de l'alcool de Tween à différentes concentrations, comme suit :

- Tube 1 (concentration 100% (v/v)) : • Mélanger 0,8 ml (800 µL) d'huile essentielle pure avec 0,2 ml (200 µL) d'alcool de Tween.
- Tube 2 (concentration 50% (v/v)) : • Mélanger 0,5 ml (500 µL) d'huile essentielle avec 0,5 ml (500 µL) d'alcool de Tween.
- Tube 3 (concentration 25% (v/v)) : • Mélanger 0,25 ml (250 µL) d'huile essentielle avec 0,75 ml (750 µL) d'alcool de Tween.
- Tube 4 (concentration 1% (v/v)) : • Mélanger 0,2 ml (200 µL) d'huile essentielle avec 0,8 ml (800 µL) d'alcool de Tween.

Il est recommandé de préparer toutes les solutions immédiatement avant leur utilisation afin de garantir leur efficacité.

Tableau 05 : Les dilutions de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*

Volume	Concentration 100%	Concentration 50%	Concentration 25%	Concentration 1%

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

Volume de l'huile essentielle	0,8	0,5	0,25	0,2
Volume de Tween.80	0,2	0,5	0,75	0,8
Volume final	1	1	1	1



Figure 16 : Les dilution de l'huile essentielle (prise personnelle)

*Préparation de McFarland standards

Cinq tubes à essai stériles ont été utilisés, chacun contenant 5 ml de l'eau physiologique stérile. À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, des cinq colonies microbiennes activées (*E. coli* ATCC 25922, *E. coli* souche clinique, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* souche clinique), et la souche fongique (*C. albicans* ATCC 91234) dans chaque tube une souche est placée selon l'ordre. Après homogénéisation des suspensions, la turbidité de chacune a été comparée au standard McFarland 0,5, visuellement, devant un fond blanc muni d'un trait noir.

Il est recommandé de préparer ces suspensions immédiatement avant leur utilisation afin de garantir l'efficacité biologique et la précision des résultats (**Figure 17**).

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

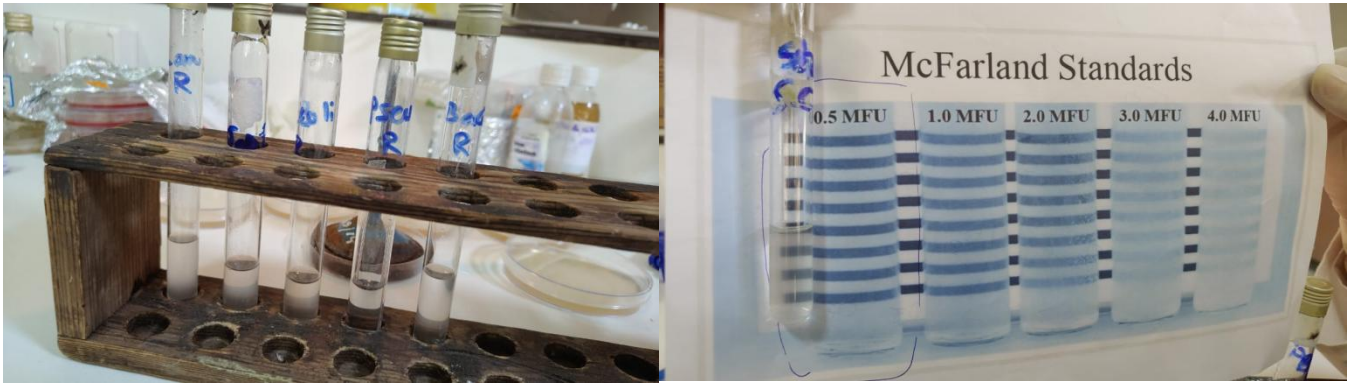


Figure 17 : Préparation de McFarland standards des cinq souches microbiennes. (prise personnelle)

*Procédé d'aromatogramme

1 Pour les bactéries

Le milieu Mueller - Hinton (MH) a été coulé dans des boîtes de Pétri stériles (4 boîtes de Pétri pour chaque souche) à raison de 20 mL par boîte, assurant une épaisseur uniforme de 4 mm, puis laissé à solidifier à proximité d'un bec Bunsen pendant 30 minutes. Par la suite, les boîtes ont été ensemencées par écouvillonnage à l'aide des mêmes suspensions microbiennes préalablement préparées, puis laissées à sécher à température ambiante pendant 5 minutes avant l'application des disques aromatoigramme.

Des disques de papier Whatman (6 mm de diamètre) ont été découpés à l'aide d'un perforateur, puis stérilisés à la vapeur pendant 20 minutes à 120 ° C dans un tube à essai hermétiquement fermé. Ils ont ensuite été imprégnés avec les dilutions huileuses de l'huile essentielle de *Myrtus communis L* (50 µL). Préalablement préparées, puis déposés sur les milieux ensemencés à l'aide d'une pince stérile, où dans chaque boîte de Petri, trois disques de la même souche sont placés, ainsi qu'un disque de contrôle négatif imprégné de Tween 80.

Les boites sont laissées 15 min à température ambiante pour permettre la diffusion des dilutions puis elles ont été incubées couvercle en bas à 37 ° C pendant 24 h.

2 Pour la levure

L'aromatogramme a été réalisé en suivant le même protocole que celui utilisé pour les souches bactériennes, à l'exception de l'incubation qui a été effectuée à 30 ° C pendant 48 heures.

La lecture des résultats s'effectue par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, (Ponce et al., 2003).

- Résistante (-) : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : 9 ≤ diamètre ≤ 14mm.
- Très sensible (++) : 15 ≤ diamètre ≤ 19mm.

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

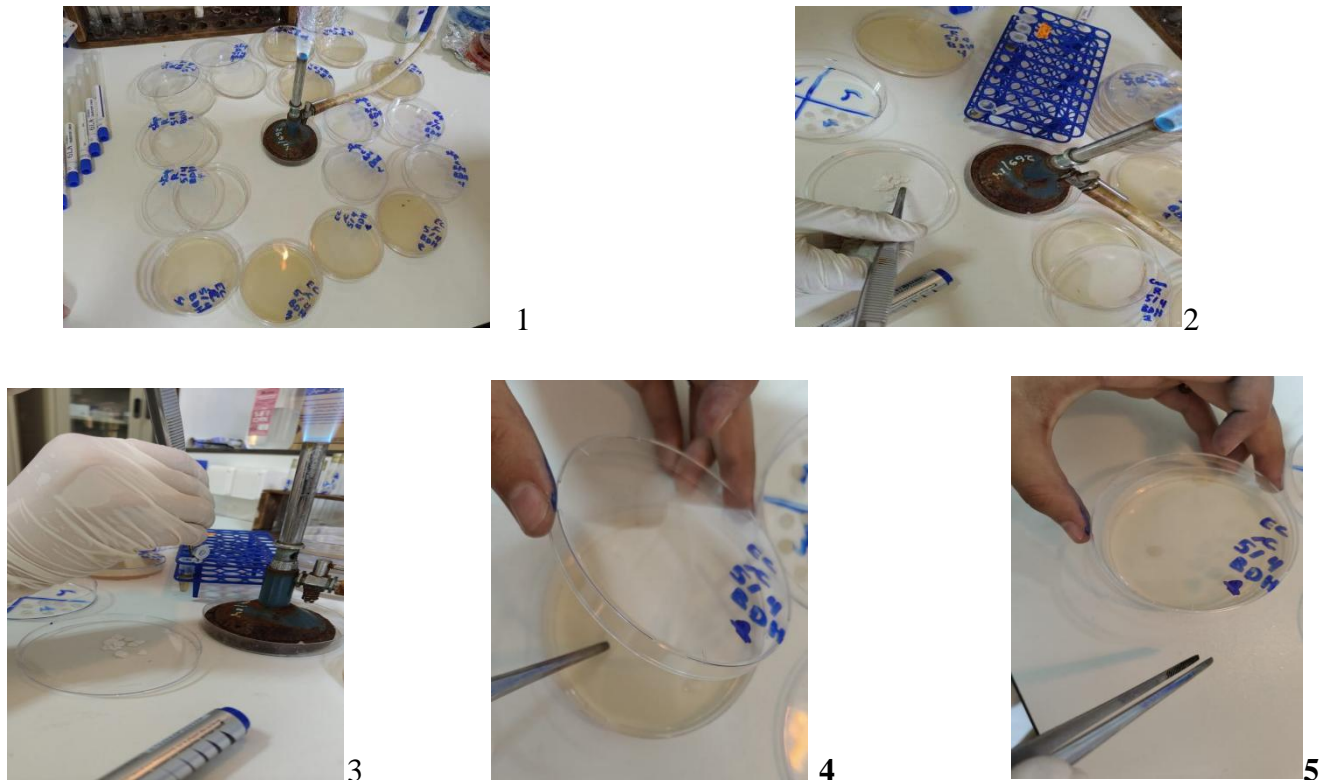


Figure 18 : Procédé d'aromatogramme de l'huile essentielle (prise personnelle)

2. Méthodes des puits :

a. Par l'extrait éthanolique et méthanolique

*Préparation de dilution.

Quatre dilutions de l'extraction éthanolique (méthanolique) des graines du *Myrtus communis L* ont été préparées dans des tubes à essai stériles, en utilisant l'éthanol (méthanol) à différentes concentrations, comme suite :

Tube 01 : (solution mère) concentration 100% ; mélanger (0.23ml) de l'extraction éthanolique (méthanolique), avec (2.3ml) de l'éthanol(méthanol).

Tube 02 : concentration 50% ; on prélève avec seringue depuis la solution mère (1.15ml) puis on ajoute dans le tube 02 avec (1.15ml) d'éthanol(méthanol).

Tube 03 : concentration 25% ; on prélève avec seringue depuis le tube 02 (0.575ml) puis on ajoute dans le tube 03 avec (1.725ml) d'éthanol(méthanol).

Tube 04 : Concentration 10% ; on prélève avec seringue depuis le tube 03 (0.23ml) puis on ajoute dans le tube 04 avec (2.07ml) d'éthanol(méthanol).

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

Tableau 06 : Les dilutions de l'extraits éthanolique (méthanolique) des graines du *M. communis L*

	Dilution 1 = 10 mg/ml	Dilution 2 = 25 mg/ml	Dilution 3 = 50 mg/ml	Solution mère = 100 mg/ml
Solution mère	0.23	0.575	1.15	2.3
Ethanol (Méthanol)	2.07	1.725	1.15	0
Volume final	2.3	2.3	2.3	2.3

*Préparation de McFarland standards

La préparation est effectuée selon la même méthode que celle utilisée pour le standard de McFarland dans l'huile essentielle (**Figure 17**).

La méthode des puits :

1 Pour les bactéries.

Quatre boîtes de pétri ont été coulé avec le milieu MH pour chaque souche (4 bactériennes et 1 fongique) à raison de 20ml par boîte, assurant une épaisseur uniforme 4mm, puis laissé solidifier à proximité d'un bec bunsen pendant 30 minutes. Par la suite, les boîtes ont été ensemencées par écouvillonnage à l'aide des mêmes suspensions microbiennes préalablement préparées, puis laissées à sécher à température ambiante pendant 5 minutes.

Avec pipette pasteur stérile crée 3 puits pour chaque boîte, et pour chaque souche faire un puit pour le contrôle négatif (éthanol ou méthanol).

Déposez 50 μ L de chaque concentration dans des puits distincts puis incubé dans l'étuve pendant 24h à 37° C.

2 Pour la levure

La méthode des puits a été réalisé en suivant le même protocole que celui utilisé pour les souches bactériennes, à l'exception du l'incubation a été effectuée à 30 ° C pendant 48 heures.

La lecture des résultats s'effectue par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, (**Ponce et al., 2003**).

•Résistante (-) : diamètre < 8mm.

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

- Sensible (+) : $9 \leq \text{diamètre} \leq 14\text{m}$.
- Très sensible (++) : $15 \leq \text{diamètre} \leq 19\text{mm}$.
- Extrêmes sensible (+++) : $\text{diamètre} > 20 \text{ mm}$.

2.5. Détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI).

a. CMI de l'huile essentielle.

***Pour *Candida albicans* :**

***Préparation de la solution mère.**

Dans un tube à essai, introduire :

- 88,94 μL d'huile essentielle (HE)
- 911 μL de DMSO

Ce mélange donne une solution mère à une concentration de 1 mg/mL.

***Préparation des dilutions.**

Dans un tube stérile, ajouter :

- Du bouillon Mueller-Hinton
- Une suspension de *Candida albicans* préparée selon le standard McFarland 0,5 (ce qui équivaut à environ $1,5 \times 10^8$ UFC/mL)

Ce tube ne contient pas d'huile essentielle et sert à vérifier la croissance fongique en absence d'inhibiteur. (Control positif).

Après ;

- Prévoir 10 tubes stériles numérotés de 1 à 10.
- Dans chaque tube, introduire un volume égal de bouillon Mueller-Hinton (1 mL).

Dans le premier tube :

- Ajouter 1 mL de la solution mère (HE + DMSO) au 1 mL de bouillon Mueller-Hinton déjà présent, puis bien homogénéiser.

Dilutions en série :

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

•Prélever 1 mL du premier tube et le transférer dans le second tube (contenant également 1 mL de milieu), puis bien mélanger.

• Répéter cette opération jusqu'au dixième tube une fois arrivé ce dernier tube, prélever 1 mL de la solution à l'aide d'une seringue stérile, puis le jeter (ne pas le réutiliser).

Cela permet de maintenir un volume final égal dans tous les tubes.

***Pseudomonas Aeruginosa :**

Les mêmes étapes du protocole précédemment décrit ont été suivies, en remplaçant la colonie de *Candida albicans* par une colonie de *Pseudomonas aeruginosa*.

b. CMI de l'extrait éthanolique.

***Préparation de la solution mère.**

Dans un tube à essai, introduire :

•88,94 µL d'extrait éthanolique (graines de *Myrtus communis L.* + éthanol)

•911 µL de DMSO

Ce mélange donne une solution mère à une concentration de 1 mg/mL.

***Préparation des dilutions : (Wilkinson, 2006)**

Dans un tube stérile, ajouter :

•Du bouillon Mueller-Hinton

•Une suspension d'E. Coli clinique préparée selon le standard McFarland 0,5 (ce qui équivaut à environ $1,5 \times 10^8$ UFC/mL) (Contrôle positif)

•Prévoir 10 tubes stériles numérotés de 1 à 10.

•Dans chaque tube, introduire un volume égal de bouillon Mueller-Hinton (1 mL).

Dans le premier tube :

•Ajouter 1 mL de la solution mère (Extrait éthanolique+ DMSO) au 1 mL de bouillon Mueller-Hinton déjà présent, puis bien homogénéiser.

Dilutions en série :

•Prélever 1 mL du premier tube et le transférer dans le second tube (contenant également 1 mL de milieu), puis bien mélanger.

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

- Répéter cette opération jusqu'au dixième tube une fois arrivé ce dernier tube, prélever 1 mL de la solution à l'aide d'une seringue stérile, puis le jeter (ne pas le réutiliser).

Cela permet de maintenir un volume final égal dans tous les tubes. (Elshikh *et al.* ; 2016)

2.6. Détermination de concentration minimale bactéricide (CMB) et fongique (CMF).

La concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF) correspondent à la plus faible concentration d'un agent antimicrobien (antibiotique, désinfectant, etc.) nécessaire pour tuer une bactérie donnée, contrairement à la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui inhibe simplement sa croissance. (Bouchaale *et al.* ; 2015)

Mode opératoire :

*Ensemencement :

Après une incubation initiale en milieu liquide (bouillon), les tubes sans croissance visible sont sélectionnés. Leur contenu est repiqué sur gélose Mueller-Hinton) à l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une anse, en réalisant des stries en surface.

Conditions d'incubation :

Les boîtes de Pétri sont incubées :

- 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries.
- 35 °C pendant 48 heures pour les levures.



Figure 19 : détermination de concentration minimale bactéricide (CMB) et fongique (CMF). (prise personnelle)



**Chapitre 02 : Résultats et
discussion**


Conclusion

Chapitre 02 : Résultats et discussion.

1.Extraction de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* :

Nous avons extrait l'huile essentielle des feuilles sèches de la plante *Myrtus communis L.* à l'aide de hydro-distillateur. La figure représente les caractéristiques organoleptiques mentionnée dans le tableau 09.

Tableau 07 : Les caractéristiques des huiles essentielles *M. communis L*

Huile essentielle	Caractéristiques	Figure 20 (Prise personnelle)
Aspect	Visqueux	
Couleur	Jaunâtre	
Odeur	Caractéristique de la plante	

2.Rendement :

Le tableau suivant représente le calcul du rendement de notre huile essentielle.

Tableau 08 : Rendement d'huile essentielle de *M. communis L*

La masse d'huile essentielle (g)	Matière végétale (g)	Le rendement d'huile essentielle %
9	8000	0.11

Le rendement d'huile essentielle de *Myrtus communis L.* est 0.11%.

Les feuilles de *Myrtus communis L.* étudié dans ce travail, ont un rendement faible, proche à celui rapporté par (Otsmane, 2017) [0.13%] obtenu à partir d'un échantillon récolté à partir de la région de (Tipaza, Algérie), et (Bekhechi C et al., 2019) [0,13%], obtenu à partir d'un échantillon récolté à partir de la

Conclusion

région de Beni Khellad (Telemcene, Algérie). Et égale à ceux de **Karbouaa (2022)** (0.11%) obtenu à partir de la région de (Tamalous, Skikda)

La valeur qu'on a obtenue est inférieure à celles obtenues par **(Bouzabata et al., 2010)** à partir de plusieurs échantillons de différentes régions du nord-est algérien : de 0,4 à 1,2% (El Kala, El Tarf), de 0,5 à 1,5% (Zitouna, El Tarf), de 0,2 à 0,7% (Seraidi, Annaba), et

Djenane et al., (2010) ont rapporté une valeur inférieure (0,05%) obtenue à partir d'un échantillon récolté de la région de Tizi-Ouzo (Algérie).


La différence entre ces résultats du rendement en HE de la même espèce, peut s'expliquer par :

- l'origine et les variations génétiques de la plante.
- La saison de la récolte.
- Le climat et les changements environnementaux, le type du sol.
- De plus, la méthode de séchage, de conservation et d'extraction, jouent également un rôle important dans la détermination de la quantité d'huile (**Rahimi et al., 2015 ; Saied et al., 2022 ; Giuliani et al., 2022**).

3.Extrait éthanolique des graines de *Myrtus communis L.* :

Ce tableau suivant présente les caractéristiques d'extrait éthanolique de *Myrtus*

Tableau 09 : Les caractéristiques de l'extraits Ethanoliques de *M. communis L.*

Les extraits éthanoliques	Caractéristique	Figure 21(prise personnel)
Aspect	Liquide	
Couleur	Marron clair	
Odeur	Caractéristique de la plante.	

Conclusion

4.Rendement :

Ce tableau présent le rendement d'extrait éthanolique.

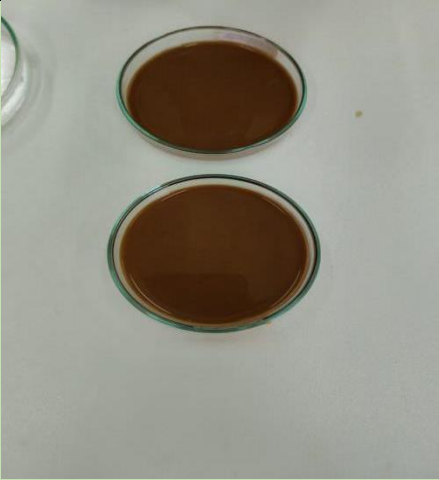
Tableau 10 : Rendement de l'extrait Ethanolique de *M. communis L*

La masse de l'extrait éthanoliques (g)	Poudre végétale (g)	Le rendement de l'extrait %
10.6	10	10.6

5.Extrait méthanolique des graines de *Myrtus communis L.* :

Ce tableau suivant présente les caractéristiques d'extrait méthanolique de *Myrtus communis L.*

Tableau 11 : Les caractéristiques de l'extrait Méthanolique *M. communis L*

Les extraits méthanoliques	Caractéristique	Figure 22(prise personnel)
Aspect	Liquide	
Couleur	Marron foncé	
Odeur	Caractéristique de la plante.	

6.Rendement :

Ce tableau suivant présente les caractéristiques d'extrait méthanolique de *myrtus*

Tableau 12 : Rendement de l'extrait Méthanolique de *M. communis L*

La masse de l'extrait méthanoliques (g)	Poudre végétale (g)	Le rendement de l'extrait %
---	---------------------	-----------------------------

Conclusion

12.9	10	12.9
------	----	------

-le rendement d'extrait éthanolique 10.6%

-le rendement d'extrait méthanolique 12.6%


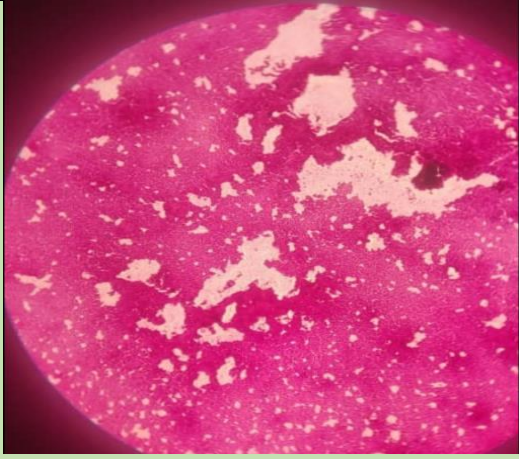
D'après (Naczk et Shahidi ,2004). Le rendement de la matière végétale cela varie en fonction de la taille, des particules, constituants de l'échantillon, la structure chimique de la plante, le temps, les conditions de stockage et la présence d'interférences.

Le rendement de l'extrait méthanolique plus élevé que celui l'extrait éthanolique, en fonction de :




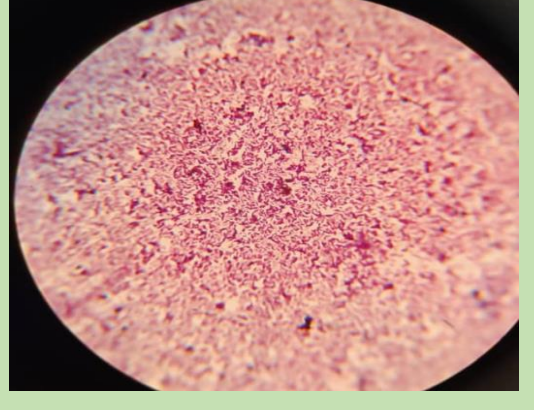

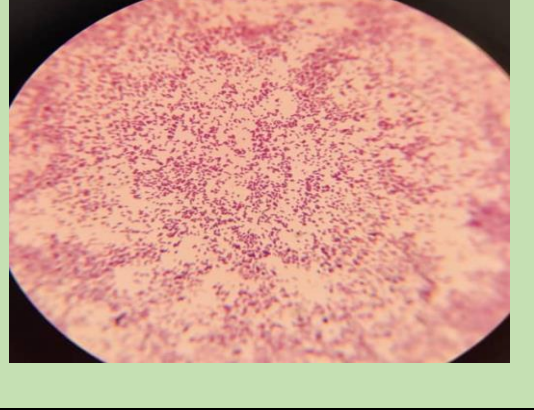
- La nature des composés présents dans l'échantillon (par exemple : les phénols, les flavonoïdes, etc).
- Le degré de polarité des composés : le méthanol extrait mieux les composés plus polaires.
- La température et la durée de l'extraction.

7.Observation macroscopique et microscopique :


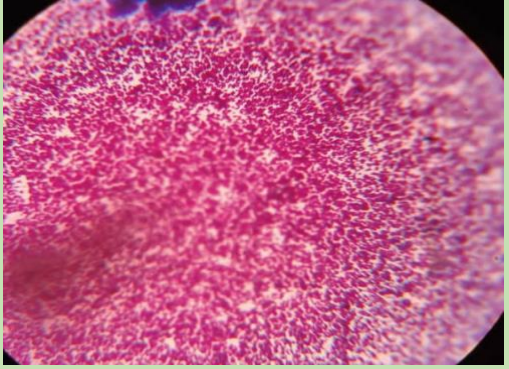

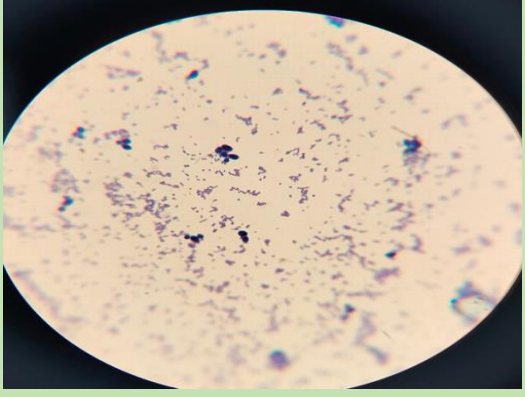
Tableau 13 : Résultats des observations macroscopiques et microscopiques des souches microbiennes

Les bactéries		
	Observation Macroscopique	Observation microscopique X 100 (Coloration de Gram)
<i>Escherichia coli</i>		
Description	Colonies d'un aspect visqueux, plat, lisses, régulières et de couleur orange.	Coccobacilles, gram négatif.

Conclusion

<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>		
<p>Description</p>	<p>Colonies sphériques, luisantes, irrégulières, lisses et de couleur jaune doré.</p>	<p>Cocci groupées par deux ou en amas caractéristiques (en grappes de raisin) Gram positif</p>
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853</p>		
<p>Description</p>	<p>Des colonies plates, régulières, muqueuses et de couleur vert.</p>	<p>Bacilles isolés ou diplobacilles. Gram négatif.</p>
<p><i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>		

Conclusion

Description	Colonies d'un aspect visqueux, plat, lisses, régulières et de couleur orange.	Coccobacilles, gram négatif.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		
Description	Colonies sphériques, luisantes, irrégulières, lisses et de couleur jaune doré.	Cocci groupées par deux ou en amas caractéristiques (en grappes de raisin) Gram négatif
La levure		
	Observation macroscopique	Observation microscopique X 100 (Coloration de Bleu de méthylène)
<i>Candida albicans</i> ATCC 91234		
Description	De couleur blanches, ou forme sphérique, régulières et lisses.	Forme arrondies (colonies colorées en bleu)

8. Résultats d'aromatogramme et la méthode des puits :

Conclusion

Les résultats de diffusion des disques de l'huile essentielle des feuilles séchées de *Myrtus communis* L. sont représentés dans le tableau 14.

a. Détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. vis-à-vis des microorganismes testés :

Tableau 14 : Les diamètres des zones d'inhibitions de l'HE de *Myrtus communis* L.

Les bactéries				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
Numéro de tube	Solution mère	Dilution 50 %	Dilution 25 %	Dilution 10 %
Moyenne ± écart-type (mm)	8 ± 1.73	10 ± 0.58	12 ± 0.58	12 ± 0.58
Sensibilité	R	S	S	S
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				
Moyenne ± écart-type (mm)	18 ± 2.08	15 ± 1.73	13 ± 1.53	14 ± 1
Sensibilité	TS	TS	S	S
<i>Escherichia coli</i>				
Moyenne ± écart-type (mm)	19 ± 4.93	6 ± 0	18 ± 7.64	17 ± 7.51
Sensibilité	TS	R	TS	TS
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
Moyenne ± écart-type (mm)	17 ± 7.51	18 ± 6	17 ± 7.51	16 ± 8.14
Sensibilité	TS	TS	TS	TS

Conclusion

La levure				
<i>Candida albicans</i> ATCC 91234				
Moyenne \pm écart-type (mm)	19 \pm 4.93	17 \pm 7.51	20 \pm 0.58	19 \pm 1.53
Sensibilité	TS	TS	ES	TS

•R : Résistante (-) : diamètre < 8mm.

•S : Sensible (+) : $9 \leq$ diamètre \leq 14mm.

•TS : Très sensible (++) : $15 \leq$ diamètre \leq 19mm.

•ES : Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.



Staphylococcus aureus



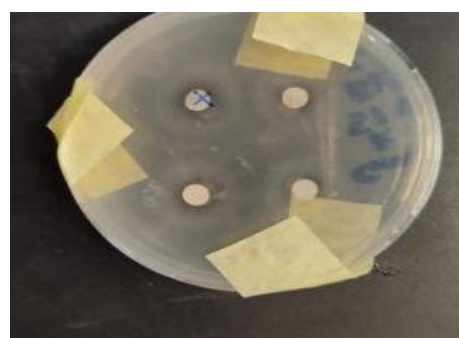
Staphylococcus aureus ATCC 25923



Escherichia coli



Escherichia coli ATCC 25922



Candida albicans ATCC 91234

Figure 23 : Les résultats d'aromatogramme par l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. (Photo original)

Conclusion

Comme le montre le tableau 14 et la figure 23, les diamètres des zones d'inhibitions d'huile essentielle varient entre 6 ± 0 et 20 ± 0.58 mm. Avec la plus grande zone d'inhibition observée contre *Candida albicans* ATCC 91234.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *E. coli* varient entre 6 et 20 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *E. coli* ATCC 25922 varient entre 16 et 18 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *S. aureus* varient entre 8 et 15 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *S. aureus* ATCC 25923 varient entre 13 et 18 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *Candida albicans* ATCC 91234 varient entre 17 et 22 mm.

Les résultats de tableau présent que l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. est plus active contre *candida albicans*.

Le tableau montre que toutes les souches microbiennes ont présent une sensibilité contre l'huile essentielle de *Myrtus communis* L.

Les résultats de (Djenane et al., 2011) montrent que l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. possède une bonne activité antimicrobienne contre *S. aureus* et *E. coli*, avec des diamètres d'inhibition de 14.8 mm et 10.7 mm respectivement.

L'huile essentielle de *Myrtus communis* L. ont démontré une activité inhibitrice contre des bactéries gram positif (*Staphylococcus aureus*) et gram négatif (*E. coli*), ainsi que des champignons (*candida albicans*).

b. Détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'extrait éthanolique des graines de Myrtus communis L. vis-à-vis ses microorganismes testés.

Les résultats de diffusion des puits de l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* L. sont représentés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Les diamètres des zones d'inhibition de l'extrait Ethanolique des graines de *M. communis* L.

Les bactéries				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
Numéro de tube	Solution	Dilution	Dilution	Dilution 10%

Conclusion

	mère	50%	25%	
Moyenne ± écart-type (mm)	17 ± 2.52	17 ± 2.89	18 ± 3.61	6 ± 0
Sensibilité	TS	TS	TS	R
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				
Moyenne ± écart-type (mm)	14 ± 6.66	15 ± 5.57	12 ± 2.52	16 ± 4.58
Sensibilité	S	TS	S	TS
<i>Escherichia coli</i>				
Moyenne ± écart-type (mm)	15 ± 2	19 ± 1.73	13 ± 2.52	6 ± 0
Sensibilité	TS	TS	S	R
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
Moyenne ± écart-type (mm)	14 ± 1.15	14 ± 3	11 ± 1.53	6 ± 0
Sensibilité	S	S	S	R
La levure				
<i>Candida albicans</i> ATCC 91234				
Moyenne ± écart-type (mm)	13 ± 3.06	13 ± 2.52	17 ± 2.89	9 ± 3
Sensibilité	S	S	TS	S

•R : Résistante (-) : diamètre < 8mm.

•S : Sensible (+) : $9 \leq \text{diamètre} \leq 14\text{m}$.

•TS : Très sensible (++) : $15 \leq \text{diamètre} \leq 19\text{mm}$.

•ES : Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

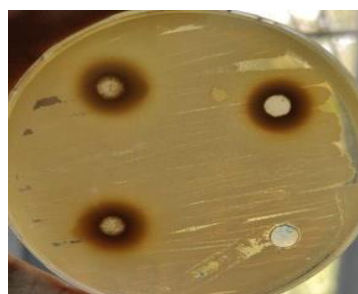
Conclusion



Staphylococcus aureus



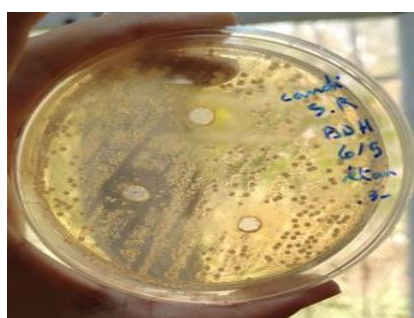
Staphylococcus aureus ATCC 25923



Escherichia coli



Escherichia coli ATCC 25922



Candida albicans ATCC 91234

Figure 24 : Les résultats de méthode des puits par l'extrait éthanolique des graines de *Myrtus communis L.* (Photo original)

c. Détermination des diamètres des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique des graines de *Myrtus communis L.* vis-à-vis ses microorganismes testés.

Les résultats de diffusion des puits de l'extrait méthanolique de *Myrtus communis L.* sont représentés dans le tableau 16.

Tableau 16 : Les diamètres des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique des graines de *M. communis L.*

Les bactéries				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
Numéro de tube	Dilution mère	Dilution 50 %	Dilution 25%	Dilution 10%
Moyenne ± écart-type (mm)	/	14 ± 1.15	8 ± 3.46	6 ± 0
Sensibilité	/	S	R	R
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				

Conclusion

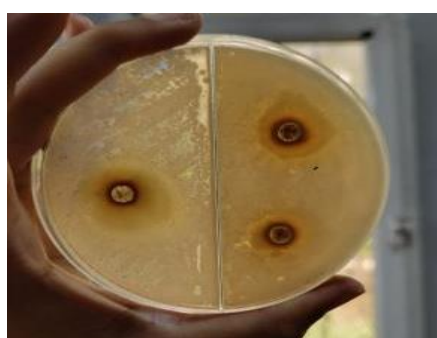
Moyenne \pm écart-type (mm)	/	20 \pm 6.43	15 \pm 7.81	11 \pm 4.58
Sensibilité	/	ES	S	S
<i>Escherichia coli</i>				
Moyenne \pm écart-type (mm)	17 \pm 2.65	9 \pm 3.06	13 \pm 3.06	7 \pm 2.31
Sensibilité	TS	S	S	R
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
Moyenne \pm écart-type (mm)	15 \pm 4.51	12 \pm 2	8 \pm 1.73	11 \pm 1
Sensibilité	TS	S	R	S
La levure				
<i>Candida albicans</i> ATCC 91234				
Moyenne \pm écart-type (mm)	9 \pm 3.06	12 \pm 5.20	12 \pm 1.53	9 \pm 2.31
Sensibilité	S	S	S	S

•R : Résistante (-) : diamètre < 8mm.

•S : Sensible (+) : $9 \leq$ diamètre \leq 14m.

•TS : Très sensible (++) : $15 \leq$ diamètre \leq 19mm.

•ES : Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.



Conclusion

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Escherichia coli



Escherichia coli ATCC 25922



Candida albicans ATCC 91234

Figure 25 : Les résultats de méthode des puits par l'extrait méthanolique des graines de *Myrtus communis* L. (Photo original)

Comme les montres les tableaux 15 et 16 et les figures 24 et 25, les diamètres des zones d'inhibitions d'extrait éthanolique et méthanolique varient entre 6 ± 0 et 20 ± 6.43 mm avec la plus grande zone d'inhibition observée d'extrait méthanolique contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Et varient entre 6 ± 0 et 19 ± 1.73 mm avec la plus grande zone d'inhibition observée d'extrait éthanolique contre *Staphylococcus aureus*.

Les diamètres des zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de *Myrtus communis* L. :

Les diamètres des zones d'inhibitions de *E. coli* varient entre 6 et 19 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *E. coli* ATCC 25922 varient entre 6 et 14 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *S. aureus* varient entre 6 et 18 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *S. aureus* ATCC 25923 varient entre 6 et 16 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *Candida albicans* ATCC 91234 varient entre 6 et 17 mm.

Les diamètres des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique de *myrtus communis* L. :

Les diamètres des zones d'inhibitions de *E. coli* varient entre 6 et 17 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *E. coli* ATCC 25922 varient entre 6 et 15 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *S. aureus* varient entre 6 et 14 mm.

Les diamètres des zones d'inhibitions de *S. aureus* ATCC 25923 varient entre 11 et 20 mm.

Conclusion

Les diamètres des zones d'inhibitions de *Candida albicans* ATCC 91234 varient entre 6 et 12 mm.

On observe que les diamètres des zones d'inhibition varient entre (6 et 19mm) pour l'extrait éthanolique, et (6 et 20 mm) pour l'extrait méthanolique des graines de *Myrtus communis* L.

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique et éthanolique des graines plus actives contre les bactéries Gram positif celles aux bactéries Gram négatif.

Pour *Candida albicans* les diamètres varient entre (6-12 mm) c'est le même pour éthanol et le méthanol.

Les résultats concordent avec ceux de (Mir et al 2020) qui a montré un fort effet inhibiteur contre les bactéries gram positif, mais aucun effet pour les bactéries gram négatif (la croissance bactérienne=0).

Les résultats de cette étude et d'autres précédentes, montrent que les extraits éthanolique et méthanolique sont légèrement plus actives contre les bactéries Gram positives que celles à Gram négatif. La grande sensibilité de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923(ayant le diamètre d'inhibition le plus grand : 20 mm) confirme l'hypothèse de la variation de la sensibilité des bactéries en fonction de la structure de leur paroi.

La grande résistance des bactéries à Gram négatif est liée, en partie, à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane, contrairement à la structure simple de la membrane des bactéries à Gram positif qui est dotée d'une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et une assie externe constituée de polysaccharides et de protéines.

9.Détermination de CMI :

Les tableaux suivants représentent les résultats des déterminations de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle et d'extrait éthanolique de *Myrtus communis* L. est vis à vis des souches microbiennes (deux souches bactériennes et une souche fongique) :

a. Pour l'huile essentielle.

Tableau 17 : Les résultats des CMI de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L.

Les souches		Les concentration (mg/ml)										
Microbiennes												
<i>Pseudomonas</i>	<i>aeruginosa</i>	40	20	10	5	2,5	1,5	0,6	0,3	0,15	Contrôle	

Conclusion

ATCC 27853											positif
	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 91234	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

(-) absence de croissance / (+) présence de croissance.

b. Pour l'extrait éthanolique.

Tableau 18 : Les résultats des CMI de l'éthanol de *Myrtus communis* L.

Souche bactérienne	Les concentration (mg/ml)									
	40	20	10	5	2,5	1,5	0,6	0,3	0,15	Contrôle positif
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-

(-) absence de croissance.

(+) présence de croissance.



a. *P. aeruginosa* ATCC27853

b. *C. albicans* ATCC 91234

c. *E. coli*

Figure 26 : Les résultats des CMI de l'éthanol et de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. pour trois souche (a, b, c) (Photo original)

Conclusion

Les valeurs des CMI de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* obtenus dans cette étude, varient de 10 mg/l.

Pour *E. coli* varient 5 mg/l.

D'après le tableau des résultats, on constate que *Pseudomonas ATCC 27853* et *Candida ATCC 91234* partage les mêmes valeurs de CMI dans elle est 10 mg/l.

Les résultats de macro dilution en milieu liquide, sont en accord avec ceux obtenu par la méthode de diffusion en milieu solide, exprimés en termes de diamètre des zones d'inhibition mesuré autour du disque.

Les résultats obtenus dans ce travail pour *Candida albicans ATCC 91234* c'est le même pour (**Karbuaa et al., 2022**). Et supérieur pour *pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* obtenu par (**Karbouaa et al., 2022**).

Pour le CMI d'extrait éthanolique, les valeurs indiquées dans le tableau, montrent que les concentrations allant de 40 à 5 mg/l.

Les résultats obtenus sont supérieurs à celles rapporté pour (**Boudraa et al., 2023**).

En règle générale, plus la zone d'inhibition est large, plus la concentration d'antimicrobien requise pour inhiber la croissance des microorganismes est faible. Cela dépend toutefois de la concentration d'agent antimicrobien dans le disque et de sa diffusibilité. Les agents antimicrobiens dont la taille moléculaire est très élevée diffusent mal dans la gélose, ce qui rend les méthodes de diffusion en disque peu fiables pour ces composés (**Matuschek et al., 2018**).

10.détermination de CMB et CMF.

Les tableaux suivants montrent les résultats des concentrations minimales bactéricides et fongicides :

Tableau 19 : Les résultats des CMB et CMF d'huile essentielle.

Les souches microbiennes	Les concentration (mg/ml)									
	40	20	10	5	2,5	1,5	0,6	0,3	0,1	Contrôle positif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	+	+						5	

Conclusion

<i>Candida albicans</i> ATCC 91234	-	-	+	
------------------------------------	---	---	---	--

Tableau 20 : Les résultats des CMB d'extrait éthanolique.

Souche bactérienne	Les concentration (mg/ml)									
	<i>E.coli</i>	40	20	10	5	2,5	1,5	0,6	0,3	0,15
	-	-	+	+						

Pour les résultats de *E. coli* obtenus sont supérieur à celles rapporté pour (Boudraa et al., 2023) il n'y a pas de CMB d'extrait éthanolique.

Les CMB sont très intéressées dans 40 mg/l.

CMB = 40 mg/l.

CMF = 10 mg/l.

En note que l'huile essentielle à complètement inhibé la croissance de *pseudomonas* ATCC 27853 et *candida* ATCC 91234 à la croissance de 40 mg/l. Ce que signifier que l'huile à un effet bactéricide / fongique vis-à-vis cette dernière.

Les huiles essentielles et les extraits éthanoliques des plantes sont des sources riches en manières pour éliminer les bactéries, notamment :

1. Destruction de la paroi cellulaire bactérienne
2. Perturbation des fonctions enzymatiques
3. Perturbation de la membrane cellulaire bactérienne
4. Inhibition de la synthèse des protéines bactériennes
5. Perturbation du métabolisme bactérien. (Helander et al., 1998 ; Ultee et al., 1999 ; Lambert et al., 2001 ; Rhayour et al., 2003 ; Souza et al., 2010 ; Szabó et al., 2010 ; Souza et al., 2013 ; Hyldgaard et al., 2012)

Conclusion

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants. Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant. (Piribi, 2006).

De ce fait, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas due à un mécanisme unique. On considère que ces composants ont plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. (Verica et Knezevic, 2013) (Oyedemi et al., 2009) ont montré que les composants de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. (eugénol, -terpinéol et -terpinène) ont un effet bactéricide contre les bactéries Gram positives et Gram négatives en perturbant leurs systèmes membranaires. Leur caractéristique importante : l'hydrophobicité, leur permet de déchirer les lipides de la membrane cellulaire bactérienne, perturbant la structure cellulaire et les rendant plus perméables.



Figure 27 : Les résultats de la CMB des extraits Ethanoliques et L'huile essentielle de *M. communis* L. (Photo original)

C
O
N
C
L
S
I
O
N



Drawn & Engraved by T. G. Volder.

Published 4. May 1790. as the Act directs, by G. White & Son.

Conclusion

Conclusion :

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et des graines de *Myrtus communis L.* met en lumière le potentiel intéressant de cette plante médicinale dans la lutte contre certaines infections bactériennes.

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* possède une bonne activité antimicrobienne contre *S. aureus* et *E. coli*, avec des diamètres d'inhibition de 14.8 mm et 10.7 mm respectivement. L'huile essentielle de *Myrtus communis L.* ont démontré une activité inhibitrice contre des bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus* clinique et ATCC) et Gram négatif (*E. coli* clinique et ATCC), ainsi que des champignons (*Candida albicans*)

Les résultats des extraits montrent que l'extrait méthanolique et éthanolique des graines plus actives contre les bactéries Gram positif celles aux bactéries Gram négatif.

Les valeurs des CMI de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.* obtenus dans cette étude, varient de 10 mg/l. Pour *E. coli* varient 5 mg/l.

D'après les résultats, on constate que *Pseudomonas* ATCC 27853 et *Candida* ATCC 91234 partagent les mêmes valeurs de CMI.

Pour les résultats de CMB on montre que l'huile essentielle a complètement inhibé la croissance de *Pseudomonas* ATCC 27853 et *Candida* ATCC 91234 à la croissance de 40 mg/l. Ce qui signifie que l'huile a un effet bactéricide / fongique vis-à-vis cette dernière.

En perspectives, il serait pertinent de caractériser précisément les composés contenus dans ces extraits et de poursuivre les investigations phytochimiques et biologiques afin d'identifier les molécules responsables des activités observées.

En outre, grâce aux résultats obtenus *in vitro*, nous avons pu démontrer que l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*, ainsi que les extraits éthanolique et méthanolique de ses graines, présentent une activité antimicrobienne notable. Ces résultats constituent une première étape prometteuse dans la recherche de nouvelles molécules antibactériennes et antifongiques d'origine naturelle. Ces composés pourraient ainsi représenter une alternative intéressante aux antibiotiques conventionnels utilisés en thérapeutique.

Référence bibliographique



Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Abbes, A. (2014). Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles D'Ammodendron verticillata «noukha» de la Région de Tlemcen. Mémoire de Master, Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Département D'Agronomie et des Forêts, Université Abou BekrBelkaid, Algérie.
- Akin, M., Aktumsek, A., & Nostro, A., (2010). Antibacterial activity and composition of the essential oils of Eucalyptus camaldulensis Dehn. and Myrtus communis L. growing in Northern Cyprus. African Journal of Biotechnology, 9(4): 531-535.
- Aleksic, V.; Knezevic, P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiol. Res.* 2014, 169, 240–254. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed].
- Alipour, G., Dashti, S., & Housein Zadeh, H. (2014). Review of pharmacological effects of Myrtus communis L. and its active constituents. *Phytotherapyresearch*, 28(8), 1125-1136.
- Amina, C. (2014). Caractérisations chimiques et physico-chimiques des extraits hydrosolubles du myrte (*Myrtus communis*), Université Badji Mokhtar-Annaba.
- Anonyme 2, 2010 : Faire ses huiles et ses hydrolats : [shttp://www.cfaitmaison.com/sante/faire-huiles-essentielles.html](http://www.cfaitmaison.com/sante/faire-huiles-essentielles.html)
- Babak Baharvand-Ahmadi, 2Mahmoud Bahmani, 3Nasrollah Naghdi, 4Kourosh Saki, 5 Sara Baharvand-Ahmadi and 6*Mahmoud Rafieian-Kopaei, 2015 : Review on phytochemistry, therapeutic and pharmacological effects of myrtus (*Myrtus communis*).
- Bakkali, F., Averbeck, S., D. Averbeck, Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* 46 : 446–475.
- Barboni, T. (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie (Doctoral dissertation, Université Pascal Paoli).
- Berthe, T., Ratajczak, M., Clermont, O., Denamur, E., & Petit, F. (2013). Evidence for coexistence of distinct *Escherichia coli* populations in various aquatic environments and their survival in estuary water. *Applied and environmental microbiology*, 79(15), 4684-469.
- Blount, Z. D. (2015). The natural history of model organisms: The unexhausted potential of *E. coli*. *Elife*, 4, e05826.

Références Bibliographiques

- Bouchaale. L, Kahlerras, A., Zouaou. S., (2015) Etude comparative de l'activité antimicrobienne.
- Bouhdid, S. (2009). Activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles : Application biotechnologique pour l'amélioration de la qualité des boyaux naturels.
- Boulezazen A, 2017.Évaluation de L'activité Antioxydant et antimicrobienne d'une plante aromatique, (Rosmarinus officinalis L.) de la forêt BéniMelloul - kenchela (en ligne.Mémoire de Master : Biologie et Valorisation des Plantes.El oude . Université Echahid Hammam Lakhder .42p (20/12/2021).
- Bouzabata A., Bazzali, O., Cabral, C., Gonçalves, M.J., Cruz, M.T. et Bighelli, A. (2013a). New compounds, chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity of the essential oil from *Myrtus nivellei* Batt.&Trab., an endemic species of Central Sahara. *J. Ethnopharmacol*, 149 (3), 613–620.
- Bouzabata, A. (2015). contribution à l'étude d'une plante médicinale et aromatique myrtus communis L (Doctoral dissertation, Faculté de Médecine, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie.).
- Bruneton,1999 : Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier, p 1120.
- Burt, S. (2004). Essential oils:their antibacterial properties and potential applications in foods—a review.*International journal of food microbiology*,94(3),223-253.
- Chalchat et al,1998 : Chalchat, J.C., Garry, R.P. et Michet, A. (1998). Essential oils of myrtle (*Myrtus communis* L.) of the Mediterranean littoral. *J. Essent. Oil Res.*, 10, 613-617.
- Chebaibi et al ,2016 : Chebaibi A., Marouf Z F., Rhazi-Filali F., Fahim M. et Ed-Dra A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. Lavoisier SAS. *Phytotherapie*. 2-9.
- Daneshfard et al, 2019: Daneshfard B, Yekta NH, Khoshdel A, Heiran A, Cheraghi R, Yarmohammadi H. The effect of *Delphinium denudatum* (Jadwar) on fatigue: A randomized double blind placebo-controlled clinical trial. *Complement Ther Med* 2019;(11):160-5.
- Denis. F, Poly. M-C, Martin. C, Cattoir. V. Du prélèvement à la caractérisation des souches. In *Bactériologie médicale : Techniques Usuelles*. Édition : *Elsevier Masson*, 2016, Chapitre 03.
- Djadi A. et Ait-Amar H. (2014). Étude de la ractivité microbiologique et de l'effet toxique sur *Carassius auratus* du Glutaraldehyde. *European Scientific Journal*, vol.10, No.21 ISSN : 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.
- Elshikh M. Ahmed S. Funston S. Dunlop P. McGaw M. Marchant R. Banat I.M 2016.

Références Bibliographiques

- Fouchère J.L., Avril J.L., (2002). Bactériologie générale et médicale. Elle ipses edition Marketing, ISBN, 207-273p.
- Franceschini, P (2016). *Myrtus communis* L. en Corse et en Méditerranée : de sa composition chimique jusqu'à ses utilisations thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques.
- Gajdács, M. (2020). Taxonomy and nomenclature of bacteria with clinical and scientific importance: current concepts for pharmacists and pharmaceutical scientists. *Acta pharmaceutica Hungarica*. 89. 99-108.
- GazardKinde et Hervé Menan (2021). Affections mycosiques Tome 2, Collège des enseignantschercheurs de parasitologie-Mycologie africains. Les éditions d'Avenir, Abidjan, Cote d'Ivoire, n°17103 ed 1, 338p
- Ghasemi, E.; Raofie, F.; Najafi, N.M. Application of response surface methodology and central composite design for the optimisation of supercritical fluid extraction of essential oils from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chem*. 2011, 126, 1449–1453. [Google Scholar] [[CrossRef](#)].
- Goetz P., Ghedira K., 2012-*Myrtus communis* L. (Myrtaceae) : Myrte, in : Phytothérapie anti-infectieuse, Collection Phytothérapie Pratique. Springer Paris, 313_320Pp.
- Gortzi O., Lalas S, Chinou I et Tsaknis J (2008). Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *Eur Food Res Technol*, 226 : 583-90.
- Gravot, A., (2008). Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.
- Grimont, P. (1987) Taxonomie des *Escherichia*. *Méd Mal Infect*, 6-10.
- Gugliuzza.G, Fascella.G, Mammano.M.M and Militello.M (2015). Non-destructive leaf area estimation in *Myrtus communis* plants. *ISHS*: 89-93.
- Homburger, F.; Boger, E. 1968. The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices: A review. *Cancer Res*. 28, 2372-2374.
- Idres, K., & Bourai, N. (2021). Contribution à l'étude ethnobotanique de la plante médicinale *Myrtus communis* L. dans les dairas d'Azeffoun et Tizgirt (Wilaya de Tizi-Ouzou) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Isah, M. B., Tajuddeen, N., Umar, M. I., Alhafiz, Z. A., MOHAMMED, A., & Ibrahim, M. A. (2018). Terpenoids as emerging therapeutic agents: cellular targets and mechanisms of action against protozoan parasites. *Studies in Natural Products Chemistry*, 59, 227-250.

Références Bibliographiques

- Ishii, S., & Sadowsky, M. J. (2008). *Escherichia coli* in the environment: implications for water quality and human health. *Microbes and environments*, 23(2), 101-108.
- ISO 16654:2001. Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157.
- Gabri, M. A., Rtibi, K., Ben-Said, A., Aouadhi, C., Hosni, K., Sakly, M., & Sebai, H. (2016). Antidiarrhoeal, antimicrobial and antioxidant effects of myrtle berries (*Myrtus communis* L.) seeds extract. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 68(2), 264–274. <https://doi.org/10.1111/jphp.1250>.
- Gean L.F., Jean L.A., (2002). Bactériologie générale et médicale. Paris Ellipses éditions, 141-239p
- Geannot K. BACTERIE_Pseudomonas.pdf 2019. https://www.sfmicrobiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Pseudomonas.pdf (accessed December 25, 2022).
- Karzan.O.Q, Sahar A.A. Al-Saadi.M and Thuraya A. Al-Saadi (2017).Chemical Composition of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) Fruits. *journal of applied life sciences international*. 12(3): 1-8.
- Lanseur, R (2017). Evaluation in-vitro des activités anti-oxydante et anti inflammatoire des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* seules et en combinaison. Mémoire de Master en Sciences biologiques option Biochimie et Biologie Moléculaire. Université Abderrahmane Mira de Bejaia. 25p.
- Le Minor, L., Popoff, M.Y. et Bockemuhl, J. (1990) Supplement 1989 to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol* 141: 1173-1177.
- Licitra, G. (2013). Etymologia: *Staphylococcus*. *Emerging Infectious Diseases*, 19(9), 1553.
- Lucchesi, M.-E. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, Université de la Réunion.
- Ludwiczuk,A., SkilckWOŻNIAK,K.,&GEORGIEV,M.I.(2017).Terpenoids.InPharmacognosy(pp. 233-266).AcademicPress.
- GADIRI Hind (2023). PSEUDOMONAS AERUGINOSA ET OTITES EXTERNES.
- Mahboubi. M, GhazianBidgoli. F (2010). In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. *Phytomedicine* 17: 771–774.
- Mahmoud I. Nassar, El-Sayed A. Aboutabl, Rania F. Ahmed, Ezzel-Din A. El-Khrisy, Khaled M. Ibrahim, Amany A. Sleem (2010). Secondary metabolites and bioactivities of *Myrtus communis*. *Pharmacognosy Research Vol 2* : 325-329.

Références Bibliographiques

- MNAYER, D. (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).

-Merabet Ch., et Menaifi H., 2015-Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'espèce :*Myrtus communis L.*(Mémoire de master , université des Frères Mentouri Costantine)104Pp.

- Messaoud C., Laabidi A. et Boussaid M. (2012). *Myrtus communis L.* infusions: the effect of infusion time on phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *J Food Sci*, 77 (9) : 941-7.

- Migliore, J., Baumel, A., Juin, M., & Medail, F. (2012). From Mediterranean shores to central Saharan mountains: key phylogeographical insights from the genus *Myrtus*. *Journal of Biogeography*, 39(5), 942-956.

-Mouadjdia Selma Seridi Meryem, 2014: Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle du *Myrtus communis*.

- NAIK, J., & PANDEY, A. (2019). Synthetic metabolism and its significance in agriculture. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 365-391). Elsevier.

-Orenstein, A. The discovery and naming of *Staphylococcus aureus* [cited 2013 Jul 10].<http://www.antimicrobe.org/h04c.files/history/S-aureus.pdf>.

- ÖZKAN, A. M. G., & GÜRAY, Ç. G. (2009). A mediterranean: *Myrtus communis L.*(myrtle). *Plants and Culture: Seeds of the Cultural Heritage of Europe*, 159-168.

-Ponce AG; Fritz R; Del Valle C;Roura SI.(2003).Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Food Science and Technology* 36, 679-684.

- Piochon.M. (2008). Etude Des Huiles Essentielles D'espèces Végétales De La Flore Laurentienne: Composition Chimique, Activités Pharmacologiques Et Hemi-Synthèse. Mémoire Présenté Comme Exigence Partielle De La Maîtrise En Ressources Renouvelables: Université Du Québec 2008.

-Otsmane, A ; (2017). Etude de certaines activités biologiques de Myrte (*Myrtus communis L.*) récolté dans la région de Tipaza. Mémoire de master.

- Quezel, P ; et Santa, S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Edition. CNRS. Paris. P 636- 637.

- Rameau J. C., Mansion D. G.& Gauberville C.(2008). Flore forestière française. Guide écologique illustré. Région méditerranéenne (vol. 3) Paris: Institut pour le développement forestier, 771.

Références Bibliographiques

- Rosato, A., Vitali, C., De Laurentis, N., Armenise, D., & Milillo, M. A., (2007). Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedicine*, 14: 727-732.
- Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., Nagashima, M., Kato, K., Okazumi, S., Katoh, R., Ishii, Y., Tateda, K. (2019). Morphological and Biological Characteristics of Staphylococcus aureus Biofilm Formed in the Presence of Plasma. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 25(5), 668–676.
- Smith, C.K.; Moore, C.A.; Alahi, E.N.; Smart, Â.T.; Hotchkiss, S.A. 2000. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168,189-99.
- Smati, M; Clermont, O; Bleibtreu, A; Fourreau, F; David, A; Daubie, A.S; Hignard, C; Loison, O; Picard, B & Denamur, E (2015). Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. *Microbiology Open* 4(4): 604–615.
- Stephen P. Diggle et Marvin Whiteley, 2020: Microbe Profile: Pseudomonas aeruginosa: opportunistic pathogen and lab rat.
- Stefahane, F. F. Y., & Juleshtps, B. K. J. (2020). Terpenoids as important bioactive constituents of essential oils. In *Essential Oils-Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications*, 222.
- Sumbul, S., M. A. Ahmad, et al. (2011). "Myrtus communis Linn.-A review." TALBI, S., R. KACEM, et al. (2012). ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS DES GRAINES DE PEGANUM HARMALA. Proceeding of the 2nd African Congress on Biology & Health University Ferhat Abbas Setif1.
- Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010). The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 8(3), 207-217.
- Thormar, H., & Hilmarsson, H. (2011). Antimicrobial lipids as disinfectants, antiseptics and sanitizers. *Lipids and Essential Oils*, 179.
- Tongnuanchan, P.; Benjakul, S. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *J. Food Sci.*, 2014, 79, 1231–1249.
- Touchon, M., Perrin, A., De Sousa, J. A. M., Vangchhia, B., Burn, S., O'Brien, C. L., ... & Rocha, E. P. (2020). Phylogenetic background and habitat drive the genetic.
- Traboulsi, A. F., K. Taoubi, et al. (2002). "Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae)." *Pest management science* 58(5): 491-495.
- Wilkinson, J.M., 2006. Methods for testing the antimicrobial activity of extracts.

Références Bibliographiques

-Wissal Dhifi et Sabrine Jazi et Marc El Beyrouthy et Carmen Sadaka et Wissem Mnif(2019).Assessing the potential and safety of Myrtus communis flower essential oils as efficient natural preservatives against Listeria monocytogenes growth in minced beef under refrigeration.

- Ziyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M. et Benjelloun W.(1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. J Ethnopharmacol, 58 : 45-54.